INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 7:

C07D 235/18, 403/10, A61K 31/4184, C07C 237/30, G01N 33/573

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/26192

A1

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:

11. Mai 2000 (11.05.00)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP99/08169

(22) Internationales Anmeldedatum: 28. Oktober 1999 (28.10.99)

(30) Prioritätsdaten:

198 50 709.7 3. November 1998 (03.11.98) DE 16. November 1998 (16.11.98) DE 198 52 801.9 1. März 1999 (01.03.99) DE 199 08 733.4

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BASF AK-TIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-67056 Ludwigshafen (DE).

(72) Erfinder; und

- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): LUBISCH, Wilfried [DE/DE]; Häuserstrasse 15, D-69115 Heidelberg (DE). KOCK, Michael [DE/DE]; Lillengasse 80, D-67105 Schifferstadt (DE). HÖGER, Thomas [DE/DE]; Rathenaustrasse 12, D-68535 Edingen-Neckarhausen (DE).
- (74) Gemeinsamer Vertreter: BASF AKTIENGESELLSCHAFT; D-67056 Ludwigshafen (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht.

- (54) Title: SUBSTITUTED 2-PHENYLBENZIMIDAZOLES, THE PRODUCTION THEREOF AND THEIR USE
- (54) Bezeichnung: SUBSTITUIERTE 2-PHENYLBENZIMIDAZOLE, DEREN HERSTELLUNG UND ANWENDUNG

(57) Abstract

The invention relates to novel 2-phenylbenzimidazoles of general formula (I) or (II), wherein the radicals have the meanings cited in the description, and to their tautomeric forms, possible enantiomeric and diastereomeric forms, to their prodrugs, and to possible physiologically compatible salts. The invention also relates to the production of said compounds and to their use.

(57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft neuartige 2-Phenylbenzimidazole der allgemeinen Formel (I) oder (II), worin die Reste die in der Beschreibung genannten Bedeutungen haben, sowie ihre tautomeren Formen, möglichen enantiomeren und diastereomeren Formen, deren Prodrugs, sowie mögliche physiologisch verträgliche Salze, deren Herstellung und Verwendung.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesôtho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
ΑU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
ΑZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GB	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland		Republik Mazedonien	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		Amerika
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun		Korea	PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumānien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		
i							

WO 00/26192 PCT/EP99/08169

Substituierte 2-Phenylbenzimidazole, deren Herstellung und Anwendung

5 Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft neuartige 2-Phenylbenzimidazole, ihre Herstellung mit neuen Zwischenprodukten und die Verwendung als Inhibitoren des Enzyms Poly(ADP-ribose)polymerase 10 oder PARP (EC 2.4.2.30) zur Herstellung von Arzneimitteln.

Poly(ADP-ribose)polymerase (PARP), bzw. wie es auch genannt wird Poly(ADP-ribose)synthase (PARS), stellt ein regulatorisches Enzym dar, das in Zellkernen gefunden wird (K. Ikai et al.,

- 15 J. Histochem. Cytochem. 1983, 31, 1261-1264). Man nimmt an, daß PARP eine Rolle bei der Reparatur von DNA-Brüchen spielt (M.S. Satoh et al., Nature 1992, 356, 356-358). Schädigungen oder Brüche der DNA-Stränge aktivieren das Enzym PARP, das, wenn es aktiviert ist, die Übertragung von ADP-Ribose aus NAD kataly-
- 20 siert (S. Shaw, Adv. Radiat. Biol., 1984, 11, 1-69). Dabei wird Nikotinamid aus NAD freigesetzt. Nikotinamid wird unter Verbrauch des Energieträgers ATP von anderen Enzymen wieder in NAD umgewandelt. Eine Überaktivierung von PARP hätte dementsprechend einen unphysiologisch hohen Verbrauch von ATP zur Folge und
- 25 dies führt im Extremfall zu Zellschädigungen und Zelltod.

Es ist bekannt, daß Radikale wie Superoxid-Anion, NO und Wasserstoffperoxid in Zellen zu DNA-Schädigungen führen können und damit PARP aktivieren. Die Bildung von großen Mengen an Radikalen

- 30 wird bei einer Reihe von pathophysiologischen Zuständen beobachtet und man geht davon aus, daß diese Anhäufung von Radikalen zu den beobachteten Zell- bzw. Organschäden führen oder beitragen. Dazu zählt von zum Beispiel ischämische Zustände von Organen wie im Schlaganfall, Herzinfarkt (C. Thiemermann et al., Proc. Natl.
- 35 Acad. Sci. USA, 1997, 94, 679-683) oder Ischämie der Nieren, aber auch Reperfusionsschäden wie sie zum Beispiel nach der Lyse von Herzinfarkt auftreten (s. oben: C. Thiemermann et al.). Die Hemmung von dem Enzym PARP könnte demzufolge ein Mittel sein, um diese Schäden mindestens zum Teil zu verhindern oder abzu-
- **40** mildern. PARP-Inhibitoren könnten somit ein neues Therapieprinzip zur Behandlung von einer Reihe von Krankheiten darstellen.

Das Enzym PARP beeinflußt die Reparatur von DNA-Schäden und könnte somit auch in der Therapie von Krebs-Erkrankungen

45 eine Rolle spielen, da in Kombination mit cytostatisch wirksamen Stoffen ein höheres Wirkpotential gegenüber Tumorgewebe

WO 00/26192

2

beobachtet wurde (G. Chen et al. Cancer Chemo. Pharmacol. 1988, 722, 303).

Nicht limitierende Beispiele für Tumoren sind Leukämie, Glio-5 blastome, Lymphome, Melanome, Mama- und Cervicalkarzinome.

Zudem wurde gefunden, daß PARP-Inhibitoren immunosuppressive Wirkung zeigen können (D. Weltin et al. *Int. J. Immunopharmacol*. 1995, 17, 265-271).

10

Es wurde ebenfalls entdeckt, daß PARP bei immunologischen Erkrankungen bzw. Krankheiten, in denen das Immunsystem eine wichtige Rolle spielt, wie zum Beispiel rheumatoide Arthritis und septischer Schock, involviert ist, und daß PARP-Inhibitoren einen günstigen Effekt auf den Krankheitsverlauf zeigen können (H. Kröger et al. Infammation 1996, 20, 203-215; W. Ehrlich

et al. Rheumatol. Int. 1995, 15, 171-172; C. Szabo et al., Proc.

Natl. Acad. Sci. USA 1998, 95, 3867-3872; S. Cuzzocrea et al.

Eur. J. Pharmacol. 1998, 342, 67-76).

20

Unter PARP im Sinne dieser Erfindung werden auch Isoenzyme des oben beschriebenen PARP-Enzyms verstanden. Solche Isoenzyme sind z.B. PARP II und PARP III.

25 Weiterhin zeigte der PARP-Inhibitor 3-Aminobenzamid protektive Effekte in einem Model für den Kreislaufschock (S. Cuzzocrea et al., Br. J. Pharmacol. 1997, 121, 1065-1074).

2-Phenylbenzimidazole sind vielfach beschrieben worden. So
30 sind in DE 38 30 060 alkylierte Derivate als Inhibitoren
der Erythrozytenaggregation offengelegt. In DE 35 22 230 ist
ein Ester-Derivat vom 2-Phenylbenzimidazol als Inhibitor der
Plättchenaggragation aufgeführt. Halogen-substituierte 2-Phenylbenzimizaole, die am Phenyl-Ring substituierte Amin-Reste tragen,
sind in WO 98/06703 als MCP-1-Antagonisten beschrieben worden.

Ebenfalls sind 2-Phenyl-benzimidazole bekannt, bei denen die Benzimidazol-Gruppe durch eine Amid-Gruppe substituiert ist. 5-Amido-Derivate des 2-Phenylbenzimidazols, die am Phenyl-Ring 40 Alkyloxy-Reste tragen, sind in WO 94/12461 als Inhibitoren der cAMP-Phosphodiesterase beschrieben worden. Für analoge Derivate wurde in DE 35 46 575 (z.B. Beispiel 15) gefunden, daß diese Verbindungen positiv inotrope Effekte auslösen. Ebenfalls 4-Amido-Derivate, die in 3-Stellung einen Pyridyl-Rest tragen,

45 sind in WO 97/48697 als Inhibitoren der cAMP-Phosphodiesterase aufgeführt.

Die Synthese von 2-Phenyl-benzimidazyl-4-amiden ist in J. Chem.

Soc. Perkin Trans 1, 1979, 2303-2307, beschrieben worden. Analoge Verbindungen, die am Amid-Rest noch eine substituierte AlkylKette tragen, und die cytotoxische Wirkung haben sollen, sind in

5 J. Med. Chem. 1990, 33, 814-819, aufgeführt. In WO 97/04771 sind dagegen Benzimidazol-4-amide aufgeführt, die das PARS hemmen.
Insbesondere sind Derivate dort als wirksam beschrieben, die einen Phenyl-Ring in 2-Stellung tragen, wobei der PhenylRing noch mit einfachen Substituenten, wie Nitro, Methoxy und CF3, substituiert sein kann. Obwohl diese Substanzen zum Teil gute Hemmung des Enzyms PARP zeigen, haben die dort beschriebenen
Derivate den Nachteil, daß sie nur wenig oder keine Löslichkeit in wäßrigen Lösungen zeigen und somit nicht als wäßrige Lösung appliziert werden können.

15

In einer Reihe von Therapien wie Schlaganfall werden die Wirkstoffe intravenös als Infusionslösung appliziert. Dazu ist es notwendig, Substanzen, hier PARP-Inhibitoren, zur Verfügung zu haben, die ausreichende Wasserlöslichkeit bei physiologischen 20 pH-Werten oder angenäherten pH-Werten (z.B: pH-Werten von 5 bis 8) aufweisen, so daß eine Infusionslösung hergestellt werden kann. Viele der beschriebenen PARP-Inhibitoren, insbesondere die besser wirksamen PARP-Inhibitoren, haben jedoch den Nachteil, daß sie nur geringe oder keine Wasserlöslichkeit 25 bei diesen pH-Werten zeigen und somit nicht für eine intravenöse Applikation in Frage kommen. Derartige Wirkstoffe können nur mit Hilfsstoffen, die die Wasserlöslichkeit vermitteln sollen, appliziert werden (vgl. WO 97/04771). Diese Hilfsstoffe, zum Beispiel Polyethylenglykol und Dimethysulfoxid, verursachen 30 häufig Nebeneffekte oder sind sogar unverträglich. Gut wirksame PARP-Inhibitoren mit ausreichender Wasserlöslichkeit sind bisher nicht beschrieben worden.

Es wurde überraschenderweise gefunden, daß 2-Phenyl-benz35 imidazole, die am Phenyl-Ring mit Alkoxy-Resten substituiert sind und an der Alkoxy-Seitenkette noch einen Amin-Rest tragen, gut wirksame Inhibitoren darstellen, die aber durch den Einbau des aliphatischen Amin-Restes eine Salzbildung mit Säuren ermöglichen und dadurch eine deutlich verbesserte Wasserlöslich40 keit zeigen.

In der vorliegenden Erfindung werden neue 2-Phenylbenzimidazol-Derivate der allgemeinen Formel I beschrieben, die gegenüber den bereits beschriebenen Verbindungen Vorteile zeigen und 45 potente PARP-Inhibitoren darstellen und zugleich auch ausWO 00/26192

reichende Wasserlöslichkeit zeigen, die eine Applikation als Infusionslösung ermöglicht.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind substituierte 5 2-Phenylbenzimidazole der allgemeinen Formel I oder II

$$R^4$$
 NH_2
 R^3
 R^4
 NH_2
 $NH_$

worin

10

15

45

 R^1 Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, wobei 20 ein C-Atom des Alkyl-Restes noch OR¹¹ oder eine Gruppe R⁵ tragen kann, wobei R^{11} Wasserstoff oder C_1 - C_4 -Alkyl bedeutet, und

Wasserstoff, Chlor, Brom, Jod, Fluor, CF3, Nitro, NHCOR21, \mathbb{R}^2 25 $NR^{22}R^{23}$ OH, O-C₁-C₄-Alkyl, O-C₁-C₄-Alkyl-Phenyl, NH₂, Phenyl, wobei die Phenyl-Ringe noch mit maximal zwei Resten R²⁴ substituiert sein können, und R²¹ und R²² unabhängig voneinander Wasserstoff oder C_1 - C_4 -Alkyl bedeuten und R^{23} Wasserstoff, C_1-C_4 -Alkyl oder Phenyl bedeuten, und R^{24} OH, C_1-C_6 -Alkyl, 30 O-C₁-C₄-Alkyl, Chlor, Brom, Jod, Fluor, CF₃, Nitro, NH₂, und

0, 1 und 2 sein kann und х

 \mathbb{R}^3 $-D-(F^1)_p-(E)_q-(F^2)_r$ -G bedeutet, wobei p, q und r nicht 35 gleichzeitig 0 sein können, oder $-E-(D)_u-(F^2)_s-(G)_v$, wobei der Rest E noch mit einem oder zwei Resten A substituiert sein kann, oder R3 gleich B ist und

R4 Wasserstoff, Chlor, Fluor, Brom, Jod, verzweigtes und unver-40 zweigtes C₁-C₆-Alkyl, OH, Nitro, CF₃, CN, NR⁴¹R⁴², NH-CO-R⁴³, $O-C_1-C_4-Alkyl$, wobei

 ${\bf R^{41}}$ und ${\bf R^{42}}$ unabhängig voneinander Wasserstoff oder C₁-C₄-Alkyl bedeuten und

 R^{43} Wasserstoff, C_1 - C_4 -Alkyl, C_1 - C_4 -Alkyl-Phenyl oder Phenyl bedeuten, und

D S und O

- E Phenyl, Imidazol, Pyrrol, Thiophen, Pyridin, Pyrimidin, Piperazin, Pyrazin, Furan, Thiazol, Isoxazol, Pyrrolidin,
- 5 Piperidin, Trihydroazepin und

 F^1 eine Kette aus 1 bis 8 Kohlenstoffatomen, wobei ein Kohlenstoffatom der Kette noch eine OH oder O- C_1 - C_4 -Alkyl-Gruppe tragen kann und

10

- F^2 eine Kette aus 1 bis 8 Kohlenstoffatomen, wobei ein Kohlenstoffatom der Kette noch eine OH oder O- C_1 - C_4 -Alkyl-Gruppe tragen kann und
- 15 p 0 und 1 bedeuten kann und
 - q 0, und 1 sein kann, und
 - r 0 und 1 sein kann und

20

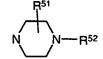
- s 0 und 1 sein kann und
- u 0 und 1 sein kann und
- 25 v 0 und 1 sein kann
 - G NR⁵¹R⁵² und

30









35

45

N R⁵²



sein kann und

- 40 R⁵¹ Wasserstoff und verzweigtes und unverzweigtes $C_1-C_6-Alkyl$, $(CH_2)_t-K$ bedeutet und
 - R^{52} Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes $C_1\text{--}C_6\text{--}Alkyl$, Phenyl,

0 ,
$$-SO_2R^{53}$$
, $-(C=N)-R^{53}$, $-CO-NHR^{53}$, $-(C=N)-NHR^{53}$,

5 worin

10

15

20

25

R⁵³ verzweigtes oder unverzweigtes O-C₁-C₆-Alkyl, Phenyl, verzweigtes oder unverzweigtes C₁-C₄-Alkyl-Phenyl, wobei bei R⁵² und R⁵³ unabhängig voneinander ein Wasserstoff des C₁-C₆-Alkylrests durch einen der folgenden Reste substituiert sein kann: OH, O-C₁-C₄-Alkyl, Cyclo-hexyl, Cyclopentyl, Tetrahydronaphthyl, Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cycloheptyl, Naphthyl und Phenyl, wobei die Carbocyclen der Reste R⁵² und R⁵³ unabhängig voneinander noch einen oder zwei der folgenden Reste tragen können: verzweigtes oder unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, verzweigtes oder unverzweigtes O-C₁-C₄-Alkyl, OH, F, Cl, Br, J, CF₃, NO₂, NH₂, CN, COOH, COOC₁-C₄-Alkyl, C₁-C₄-Alkyl-amino, CCl₃, C₁-C₄-Dialkylamino, SO₂-C₁-C₄-Alkyl, SO₂Phenyl, CONH₂, CONH-C₁-C₄-Alkyl, CONHPhenyl, CONH-C₁-C₄-Alkyl-Phenyl, NHSO₂-C₁-C₄-Alkyl, NHSO₂Phenyl, S-C₁-C₄-Alkyl, NHSO₂Phenyl, S-C₁-C₄-Alkyl, NHSO₂Phenyl,

S-C₁-C₄-Alkyl,

O

U

U

$$\begin{array}{c} 0 \\ \hline \\ -0 \end{array}$$

$$\begin{array}{c} C_1 - C_4 - \text{Alkyl}, \\ -0 \end{array}$$

$$\begin{array}{c} C_0 - C_4 - \text{Alkyl-Phenyl} \end{array}$$

CHO, $CH_2-O-C_1-C_4-Alkyl$, $-CH_2O-C_1-C_4-Alkyl-Phenyl$, $-CH_2OH$, $-SO-C_1-C_4-Alkyl$, $-SO-C_1-C_4-Alkyl-Phenyl$, $-SO_2NH_2$, $-SO_2NH-C_1-C_4-Alkyl$

30 und zwei Reste eine Brücke $-0-(CH_2)_{1,2}-0-$ bilden, bedeuten kann,

В

45

sein kann und

Wasserstoff, Chlor, Brom, Jod, Fluor, CF3, Nitro, OH, O-C1-C4-Alkyl, O-C1-C4-Alkyl-Phenyl, NH2, verzweigtes und unverzweigtes C_1 -C6-Alkyl, CN, NH-CO-R³³, wobei R³³ Wasserstoff, C_1 -C4-Alkyl oder Phenyl bedeutet, sein kann und

 R^{31} Wasserstoff, C_1 - C_6 -Alkyl, $(CH_2)_t$ -K und

 R^{32} Wasserstoff, $C_1-C_6-Alkyl,\ -CO-R^8,\ SO_2-R^8,\ -(C=N)-R^8,\ -CO-OR^8,\ -CO-NHR^8$ und $-(C=N)-NHR^8$ und

10

5

 R^{33} Wasserstoff und C_1 - C_4 -Alkyl und

t 0,1,2,3,4 und

Phenyl, der noch maximal zwei Reste R tragen kann, NRk1Rk2 (mit Rk1 bzw. Rk2 mit den gleiche Bedeutungen wie R41 bzw. R42), NH-C1-C4-Alkyl-Phenyl, Pyrrolidin, Piperidin, 1,2,5,6-Tetrahydropyridin, Morpholin, Trihydroazepin, Piperazin, das noch mit einem Alkyl-Rest C1-C6-Alkyl substituiert sein kann, und Homopiperazin, das noch mit einem Alkyl-Rest C1-C6-Alkyl substituiert sein kann, und

 R^5 Wasserstoff, $C_1-C_6-Alkyl$, NR^7R^9 und

35

45

bedeuten kann und

 R^7 Wasserstoff, C_1 - C_6 -Alkyl, C_1 - C_4 -Alkyl-Phenyl, Phenyl, wobei der Ring noch mit bis zu zwei Resten R^{71} substituiert sein können, und

 R^{71} OH, C_1 - C_6 -Alkyl, O- C_1 - C_4 -Alkyl, Chlor, Brom, Jod, Fluor, CF_3 , Nitro, NH₂, und

WO 00/26192

- Wasserstoff, C_1 - C_6 -Alkyl, Phenyl, C_1 - C_4 -Alkyl-Phenyl, wobei der Ring noch mit bis zu zwei Resten R81 substituiert sein kann, und
- 5 R81 OH, $C_1-C_6-Alkyl$, $O-C_1-C_4-Alkyl$, Chlor, Brom, Jod, Fluor, CF_3 , Nitro, NH₂, und
 - R9 Wasserstoff, $COCH_3$, $CO-O-C_1-C_4-Alkyl$, $COCF_3$, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, wobei ein oder zwei Wasserstoffe
- 10 des C₁-C₆-Alkylrests durch jeweils einen der folgenden Reste substituiert sein kann: OH, O- C_1 - C_4 -Alkyl und Phenyl und der Phenyl-Ring noch einen oder zwei der folgenden Reste tragen kann: Jod, Chlor, Brom, Fluor, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, Nitro, Amino, C₁-C₄-Alkylamino, C₁-C₄-Dialkyl-
- 15 amino, OH, O- C_1 - C_4 -Alkyl, CN, CF₃, SO₂- C_1 - C_4 -Alkyl, bedeuten kann, und

sowie-ihre-tautomeren-Formen; möglichen enantiomeren und diastereomeren Formen, und deren Prodrugs und pharmakologisch verträglichen Salze.

Bevorzugt sind die Verbindungen, bei denen die Reste folgende Bedeutung annehmen:

- 25 R¹ Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, wobei ein C-Atom des Alkyl-Restes noch OR11 oder eine Gruppe R5 tragen kann, wobei
- Wasserstoff oder C₁-C₄-Alkyl bedeutet, und 30

- R^2 Wasserstoff, Chlor, Fluor, Brom, Iod, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, Nitro, CF₃, CN, NR²¹R²², NH-CO-R²³, OR²¹, wobei
- $35~{
 m R}^{21}~{
 m und}~{
 m R}^{22}~{
 m unabhängig}$ voneinander Wasserstoff oder ${
 m C}_1{
 m -}{
 m C}_4{
 m -}{
 m Alkyl}$ bedeuten und
 - R^{23} Wasserstoff, C_1 - C_4 -Alkyl oder Phenyl bedeuten, und
- 40 R³ $-O-(CH_2)_{o}-(CHR^{31})_{m}-(CH_2)_{n}-R^5$, wobei
 - R^{31} Wasserstoff, $C_1-C_4-Alkyl$, OH und $O-C_1-C_4-Alkyl$,
- m,o unabhängig voneinander 0, 1 oder 2 bedeutet, und 45
 - 1, 2, 3 oder 4 bedeutet, und

- R⁴ Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, Chlof, Brom Fluor, Nitro, Cyano, NR⁴¹R⁴², NH-CO-R⁴³, OR⁴¹, wobei
- R^{41} und R^{42} unabhängig voneinander Wasserstoff oder C_1 - C_4 -Alkyl bedeuten und
 - R^{43} $C_1-C_4-Alkyl$ oder Phenyl bedeuten, und
 - R⁵ NR⁵¹R⁵² oder einen der folgenden Reste

10

15

bedeutet, wobei

- 20 R^{51} Wasserstoff und verzweigtes und unverzweigtes $C_1-C_6-Alkyl$ bedeutet und
 - R^{52} Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, Phenyl,

25

$$\begin{array}{c}
0\\
\\
R^{53}
\end{array}, -SO_2R^{53}, \text{ worin}$$

R⁵³ verzweigtes oder unverzweigtes O-C₁-C₆-Alkyl, Phenyl, 30 verzweigtes oder unverzweigtes C1-C4-Alkyl-Phenyl, wobei bei R^{52} und R^{53} unabhängig voneinander ein Wasserstoff des C1-C6-Alkylrests durch einen der folgenden Reste substituiert sein kann: OH, O-C1-C4-Alkyl, Cyclohexyl, Cyclopentyl, Tetrahydronaphthyl, Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cycloheptyl, 35 Naphthyl und Phenyl, wobei die Carbocyclen der Reste R52 und R⁵³ unabhängig voneinander noch einen oder zwei der folgenden Reste tragen können: verzweigtes oder unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, verzweigtes oder unverzweigtes O- C_1 - C_4 -Alkyl, OH, F, Cl, Br, J, CF₃, NO₂, NH₂, CN, COOH, COOC₁-C₄-Alkyl, C₁-C₄-Alkylamino, CCl₃, C₁-C₄-Dialkylamino, SO₂-C₁-C₄-Alkyl, 40 SO_2 Phenyl, $CONH_2$, $CONH-C_1-C_4-Alkyl$, CONHPhenyl, $CONH-C_1-C_4-Alkyl$ Alkyl-Phenyl, NHSO₂- C_1 - C_4 -Alkyl, NHSO₂Phenyl, S- C_1 - C_4 -Alkyl,

CHO, $CH_2-O-C_1-C_4-Alkyl$, $-CH_2O-C_1-C_4-Alkyl-Phenyl$, $-CH_2OH$, $-SO-C_1-C_4-Alkyl$, $-SO-C_1-C_4-Alkyl-Phenyl$, $-SO_2NH_2$, $-SO_2NH-C_1-C_4-Alkyl$

und zwei Reste eine Brücke -O-(CH₂)_{1,2}-O- bilden, bedeutet.

5 Besonders bevorzugte Positionen für den Rest R² in der allgemeinen Formel I oder II sind die 3-Position und die 4-Position zum Benzimidazolring. Für den Rest R³ ist ebenfalls die 3-Position oder 4-Position zum Benzimidazolring bevorzugt.

10 Die besonders bevorzugte Bedeutung von R^1 ist Wasserstoff.

Die besonders bevorzugte Bedeutung von R^2 ist Wasserstoff, verzweigtes oder unverzweigtes $C_1-C_6-Alkyl$, Nitro, CN, NH_2 , $O-C_1-C_4-Alkyl$.

15

Die besonders bevorzugte Bedeutung von R^3 ist $-0-(CH_2)p-R^5$ mit p gleich 2, 3 oder 4.

- R⁵ bedeutet bevorzugt einen 6-gliedrigen Ring, insbesondere 20 Piperazin,
 - R^{52} bedeutet bevorzugt einen gegebenenfalls substituierten Phenylring, insbesondere falls R^5 einen 6-gliedrigen Ring bedeutet.

25

Die besonders bevorzugte Bedeutung von \mathbb{R}^4 ist Wasserstoff.

Ganz besonders bevorzugt sind die jeweiligen Kombinationen der obigen bevorzugten Bedeutungen.

30

Bevorzugt sind außerdem Verbindungen mit folgenden Bedeutungen für die Substituenten:

- R^1 Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, wobei ein C-Atom des Alkyl-Restes noch OR^{11} oder eine Gruppe R^5 tragen kann, wobei R^{11} Wasserstoff oder C_1 - C_4 -Alkyl bedeutet, und
- R^2 Wasserstoff, Chlor, Fluor, Brom, Jod, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, Nitro, CF_3 , CN, $NR^{21}R^{22}$, NH-CO- R^{23} , OR^{21} , wobei

 \mbox{R}^{21} und \mbox{R}^{22} unabhängig voneinander Wasserstoff oder $\mbox{C}_1\mbox{-}\mbox{C}_4\mbox{-}\mbox{Alkyl}$ bedeuten und

45 R^{23} Wasserstoff, C_1-C_4 -Alkyl oder Phenyl bedeuten, und

 R^3

5
$$-N$$
 N
 $-N$
 N
 R^{31}
 R^{31}
 R^{31}

und

R31 Wasserstoff, CHO und $-(CH_2)_0-(CHR^{32})_m-(CH_2)_n-R^5$,

10 wobei

> R32 Wasserstoff, C_1 - C_4 -Alkyl, OH und O- C_1 - C_4 -Alkyl,

> m, o unabhängig voneinander 0, 1 oder 2 bedeutet und

1, 2, 3 oder 4 bedeutet, und n

Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, Chlor, 15 R4 Brom Fluor, Nitro, Cyano, NR41R42, NH-CO-R43, OR41, wobei

> R^{41} und R^{42} unabhängig voneinander Wasserstoff oder C_1-C_4-A1-

kyl bedeuten und

20 R43 C₁-C₄-Alkyl oder Phenyl bedeuten, und

 $NR^{51}R^{52}$ oder einen der folgenden Reste R⁵

wobei

45

R51 Wasserstoff und verzweigtes und unverzweigtes

35 C₁-C₆-Alkyl bedeutet und

R52 Wasserstoff, COCH₃, CO-O-C₁-C₄-Alkyl, COCF₃, verzweigtes und unverzweigtes C1-C6-Alkyl, wobei ein Wasserstoff des C_1 - C_6 -Alkylrests durch einen der 40 folgenden Reste substituiert sein kann: OH,

O-C1-C4-Alkyl und Phenyl und der Phenyl-Ring noch einen oder zwei der folgenden Reste tragen kann: Chlor, Brom, Fluor, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₄-Alkyl, Nitro, Amino, C₁-C₄-Alkylamino,

C₁-C₄-Dialkylamino, OH, O-C₁-C₄-Alkyl, CN,

 $SO_2-C_1-C_4-Alkyl$, bedeutet.

Besonders bevorzugte Positionen für den Rest R^2 in der allgemeinen Formel I oder II sind die 3-Position und die 4-Position zum Benzimidazolring. Für den Rest R^3 ist ebenfalls die 3-Position oder 4-Position zum Benzimidazolring bevorzugt.

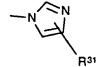
Die besonders bevorzugte Bedeutung von R¹ ist Wasserstoff.

Die besonders bevorzugte Bedeutung von R^2 ist Wasserstoff, verzweigtes oder unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, Nitro, CN, NH₂, 10 O- C_1 - C_4 -Alkyl. Besonders bevorzugt ist R^2 gleich Wasserstoff.

Für R³ gleich

15

5



ist die besonders bevorzugte Bedeutung von R^{31} ist Wasserstoff oder $-(CH_2)_p-R^5$, wobei

p 1 oder 2 bedeutet und

R⁵² Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, wobei ein Wasserstoff des C₁-C₆-Alkylrests durch einen der folgenden Reste substituiert sein kann: OH, O-C₁-C₄-Alkyl und Phenyl und der Phenyl-Ring noch einen oder zwei der folgenden Reste tragen kann: Chlor, Brom, Fluor, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₄-Alkyl, Nitro, Amino, C₁-C₄-Alkylamino, C₁-C₄-Dialkylamino, OH, O-C₁-C₄-Alkyl, CN, SO₂-C₁-C₄-Alkyl, bedeuten kann.

Für R3 gleich

35

45



ist die besonders bevorzugte Bedeutung von R^{31} ist Wasserstoff oder $-(CH_2)_p-R^5$, wobei

p 1 oder 2 bedeutet und

 R^{52} Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, wobei ein Wasserstoff des C_1 - C_6 -Alkylrests durch einen der folgenden Reste substituiert sein kann: OH, $O-C_1-C_4$ -Alkyl und Phenyl und der Phenyl-Ring noch einen

oder zwei der folgenden Reste tragen kann: Chlor, Brom, Fluor, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_4 -Alkyl, Nitro, Amino, C_1 - C_4 -Alkylamino, C_1 - C_4 -Dialkylamino, OH, O- C_1 - C_4 -Alkyl, CN, SO₂- C_1 - C_4 -Alkyl, bedeuten kann.

5

Für R³ gleich

10

ist die besonders bevorzugte Bedeutung von

R⁵² Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, wobei ein Wasserstoff des C₁-C₆-Alkylrests durch einen der folgenden Reste substituiert sein kann: OH, O-C₁-C₄-Alkyl und Phenyl und der Phenyl-Ring noch einen oder zwei der folgenden Reste tragen kann: Chlor, Brom, Fluor, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₄-Alkyl, Nitro, Amino, C₁-C₄-Alkylamino, C₁-C₄-Dialkylamino, OH, O-C₁-C₄-Alkyl, CN, SO₂-C₁-C₄-Alkyl, bedeuten kann.

Die besonders bevorzugte Bedeutung von R4 ist Wasserstoff.

Ganz besonders bevorzugt sind die jeweiligen Kombinationen der 25 obigen bevorzugten Bedeutungen.

Die Verbindungen der Formel I können als Racemate, als enantiomerenreine Verbindungen oder als Diastereomere eingesetzt werden.
Werden enantiomerereine Verbindungen gewünscht, kann man diese
30 beispielsweise dadurch erhalten, daß man mit einer geeigneten
optisch aktiven Base oder Säure eine klassische Racematspaltung
mit den Verbindungen der Formel I oder ihren Zwischenprodukten
durchführt.

35 Gegenstand der Erfindung sind auch zu Verbindungen der Formel I mesomere oder tautomere Verbindungen.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind die physiologisch verträglichen Salze der Verbindungen I, die sich durch Umsatz

40 von Verbindungen I mit einer geeigneten Säure oder Base erhalten lassen. Geeignete Säuren und Basen sind zum Beispiel in Fortschritte der Arzneimittelforschung, 1966, Birkhäuser Verlag, Bd. 10, S. 224-285, aufgelistet. Dazu zählen zum Beispiel Salzsäure, Citronensäure, Weinsäure, Milchsäure, Phosphorsäure, 45 Methansulfonsäure, Essigsäure, Ameisensäure, Maleinsäure, Fumar-

säure usw. bzw. Natriumhydroxid, Lithiumhydroxid, Kaliumhydroxidund Tris.

PCT/EP99/08169

Unter Prodrugs werden solche Verbindungen verstanden, die in vivo 5 in Verbindungen der allgemeinen Formel I oder II metabolisiert werden. Typische Prodrugs sind Phosphate, Carbamate von Aminosäuren, Ester und andere.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen 2-Phenylbenzimidazole der 10 Formel I oder II kann auf verschiedenen Wegen erfolgen, die in folgenden Syntheseschemas skizziert wurden.

Syntheseschema 1

45 Durch Kondensation von Benzaldehyden V mit Phenylendiaminen VI erhält man das Benzimidazol VII, wobei man bevorzugt in polaren Lösungsmitten wie Ethanol oder Dimethylformamid mit Zusatz von

Säuren wie Essigsäure bei erhöhter Temperatur arbeitet, in der Regel 80 bis 120°C. Günstig für die Reaktion ist der Zusatz von schwachen Oxidationsmittel wie Kupfer-II-Salzen, die als wäßrige Lösung zugesetzt werden.

Syntheseschema 2

5

10
$$R^{2}$$

$$R^{3}$$

$$XI$$

$$XI$$

$$R^{4}$$

30 Wenn in dem Phenylendiamin $VI R = NH_2$ ist, entstehen bei der Kondensation direkt erfindungsgemäße Verbindungen I. Ansonsten kann man, falls R = O-Alkyl ist, diesen Ester mit Ammoniak, bei gegebenenfalls erhöhter Temperatur und erhöhtem Druck, zum Amid I umsetzen. Alternativ kann man den Ester XII mit Hydrazin in

VII

35 polaren Lösungsmitteln, wie die Alkohole Butanol und Ethanol oder auch Dimethylformamid, bei erhöhten Temperaturen, vorzugsweise 80 bis 130°C, umsetzen, wobei ein Hydrazid XII (R = NHNH₂) anfällt, das danach noch unter reduktiven Bedingungen, wie mit Raney-Nickel in Alkoholen unter Rückfluß, zum Amid I reduziert werden

40 kann.

25

XII

Eine Einführung des Restes R1 am Benzimidazol-Rest in I (R1 =H) gelingt unter üblichen Alkylierungsbedingungen, wie sie zum Beispiel in J.Het.Chem. 1995, 32, 707f und in Tetrahedron 1994, 50, 45 5535), wobei allerdings der Reaktionspartner R1-L (L = Abgangsgruppe wie Cl, Br. Und J) eingesetzt werden muß.

Synthesschema 3

Alternativ zu den im Schema 1 gezeigten Benzaldehyden V kann man auch Benzoesäuren wie XI (siehe Schema 2) oder Benzonitrile wie 25 XIII(siehe Schema 3) anstelle des Benzaldehyds einsetzen. Die Herstellung dieser Derivate erfolgt analog zur Herstellung der substituierten Benzaldehyde V. Ausgehend von XI erfolgt die Kondensation zu VII in zwei Stufen. Zuerst wird die Benzoesäure XI mit dem Anilin VI in einer peptidartigen Kupplung zum Amid XII 30 umgesetzt. Dabei arbeitet man nach üblichen Bedingungen, die zum Beispiel im Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, 4. Aufl., E5, Kap.V bzw. C.R. Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publisher, 1989, Seite 972f. aufgelistet sind. Der Ringschluß erfolgt zum Benzimidazol erfolgt danach bei 35 erhöhter Temperatur, zum Beispiel 60 bis 180°C, mit oder ohne Lösungsmitteln wie Dimethylformamid, unter Zusatz von Säuren wie Essigsäure oder direkt in Essigsäure selbst.

Die Reaktion des Phenylendiamins VI mit einem Benzonitril XIII 40 erfolgt ebenfalls unter üblichen Bedingungen. Dabei kann man in Lösungsmitten wie Dimethylformamid unter Zusatz von Säuren bei erhöhter Temperatur, wie 60 bis 200°C, arbeiten. Allerdings kann man auch die üblichen Methoden zur Herstellung von Amidinen aus Benzonitrilen anwenden, wie sie in in Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, E5, S. 1304 f., J. Amer.Chem.Soc. 1957, 427 und J.Org.Chem. 1987,1017 beschrieben sind.

Die vorliegende Erfindung betrifft außerdem 2,3-Diaminobenzamide der Formel XX, XXI und deren Synthese und Verwendung als Zwischenstufen.

5 Diaminobenzamide, die am Amid-Rest eine substituierte Alkylkette tragen, werden in WO 9631462 zur Behandlung neurodegenerativer Krankheiten beschrieben. Diaminobenzamide, die am Amid-Rest einen substituierten Aryl-Rest tragen, werden in JP 09059236 zur Behandlung von Entzündungen und Allergien beschrieben. Die Effekte 10 von Benzohydroxamsäuren auf die DNA-Synthese wurden in Bull. Soc. Chim. Belg. 1997, 106, 767 untersucht.

Amino-dibenzodiazepinone wurden in P. V. Khadikar et al., J. Heterocycl. Chem. 1998, 35, 675 hergestellt. Die Synthese von 15 2-Phenyl-benzimidazyl-4-amiden ist in J. Chem. Soc. Perkin Trans 1, 1979, 2302-2307 beschrieben worden. Analoge Verbindungen, die am Amid-Rest noch eine substituierte Alkyl-Kette tragen, und die cytotoxische Wirkung haben sollen, sind in J. Med. Chem. 1990, 33, 814-819 aufgeführt. In WO 97/04771 sind Benzimidazol-4-amide 20 aufgeführt, die das Enzym PARP hemmen. Insbesondere sind Derivate als wirksam beschrieben, die einen Phenylring in 2-Stellung tragen, wobei der Phenyl-Ring noch mit einfachen Substituenten wie Nitro, Methoxy und CF3 substituiert sein kann.

25 Zur Veranschaulichung der Synthesestrategie in WO 97/04771 ist in Schema 4 beispielhaft die Synthese von 2-Phenylbenzimidazol-4carboxamid (NU 1070) dargestellt.

Schema 4

Die Umsetzung von Diaminobenzoesäuremethylester IV mit Benzoesäure V in Polyphosphorsäure ergibt den Benzimidazol-4-carbonsäureester VI in 20 % Ausbeute. Abschließend wird Ester VI mit-40 tels Säurechloridbildung in das Amid VII überführt. Für diesen Schritt geben die Autoren eine Ausbeute von 62 % an. Für die Synthesesequenz ergibt sich eine Gesamtausbeute von 12 %. Die Gesamtausbeuten für die Synthesen aller anderen in WO 97/04771 genannten Beispiele liegen in einem Rahmen von 5 bis 19 %. Ein 45 großer Nachteil dieser Synthesestrategie ist die Tatsache, daß

jede zu VI analoge Verbindung noch in das Amid überführt werden muß, das erst den wirksamen PARP-Inhibitor darstellt.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind 2,3-Diamino-benzamide 5 der Formel XX und XXI:

worin

10

R4 und R1 die oben genannten Bedeutungen besitzen, sowie deren 15 Salze.

Die Synthese der Verbindungen XX bzw. XXI erfolgt nach Schema 5 durch Hydrazinolyse eines geeignet substituierten Esters VIII mit Hydrazinhydrat in einem Alkohol wie n-Butanol bei 100°C und an-20 schließender Reduktion des Hydrazids mit Raney-Nickel in polaren Lösungsmitteln wie Dimethylformamid bei 100°C.

Schema 5

30 Überraschender Weise ergaben sich in den Synthesen von Benzimidazol-4-amiden aus den Verbindungen XX bzw. XXI außerdem höhere Gesamtausbeuten als die in WO 97/04771 beschriebenen.

Die Synthese von Benzimidazol-4-amiden aus den Verbindungen der 35 Formel XX und XXI wird in Schema 6 bzw. Schema 7 beschrieben.

Schema 6

45 Durch Kondensation eines geeigneten Aldehyds OHC-B mit Verbindungen XX bzw. XXI erhält man das Benzimidazol I, wobei man bevorzugt in polaren Lösungsmitteln wie Ethanol oder Dimethylformamid

und Zusatz von Säuren wie Essigsäure bei erhöhter Temperatur arbeitet, in der Regel 80 bis 120°C. Günstig für die Reaktion ist der Zusatz von schwachen Oxidationsmitteln wie Kupfer-II-Salzen, die als wäßrige Lösung zugesetzt werden.

Schema 7

5

10
$$R^{4} \longrightarrow NH_{2} \longrightarrow R^{4} \longrightarrow R^{4} \longrightarrow R^{5} \longrightarrow$$

Mit geeigneten Säuren HOOC-B erfolgt zunächst eine peptidartige Kupplung mit den Verbindungen XX bzw. XXI. Dabei arbeitet man 15 nach üblichen Bedingungen, die zum Beispiel in Houben Weyl, Methoden der Organischen Chemie, 4. Aufl., E5, Kap. V bzw. C.R. Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH 1 Publisher, 1989, S. 972f. aufgelistet sind. Der Ringschluß erfolgt anschließend bei erhöhter Temperatur, zum Beispiel 60 20 bis 180°C, mit oder ohne Lösungsmitteln wie Dimethylformamid, unter Zusatz von Säuren wie Essigsäure oder direkt in Essigsäure selbst.

Zum Vergleich der Gesamtausbeuten der neuen Synthesestrategie mit 25 denen in WO 97/04771 ist die Synthese von 2-Phenylbenzimidazol-4carboxamid in Schema 11 dargestellt. Die Umsetzung von Ester XIV zum Amid XV erfolgt in 70 %. Die Synthese des Benzimidazols VII durch Kondensation von XV mit Benzaldehyd XVI mit anschließender Oxidation verläuft mit 85 % Ausbeute. Die daraus resultierende 30 Gesamtausbeute von 60 % übertrifft die entsprechende Gesamtausbeute von 12 % in WO 97/04771.

Schema 8

40 Die in der vorliegenden Erfindung enthaltenen substituierten 2-Phenylbenzimidazole I oder II stellen Inhibitoren des Enzyms Poly-(ADP-ribose)polymerase oder PARP (EC 2.4.2.30) dar. Die inhibitorische Wirkung der substituierten 2-Phenylbenzimidazole I oder II wurde mit einem in der Literatur bereits be-45 kannten Enzymtest ermittelt, wobei als Wirkmaßstab ein Ki-Wert ermittelt wurde. Die 2-Phenylbenzimidazole I wurden in dieser Weise

auf Hemmwirkung des Enzyms Poly(ADP-ribose)polymerase oder PARP ~ (EC 2.4.2.30) gemessen.

Es besteht ein hoher Bedarf an PARP-Inhibitoren mit hohem inhibi5 torischen Potential (K_i <50 nm) und guter Bioverfügbarkeit. Die
Identifizierung solcher Verbindungen als auch ihre Optimierung
setzt ein schnelles, effizientes Assay-System zur Quantifizierung
der Aktivität der Poly-(ADP-ribose)-polymerase voraus. Alle bislang verfügbaren Assay-Systeme basieren auf der Verwendung von

- 10 radioaktivem NAD als Substrat für PARP und der Quantifizierung der in das Poly-(ADP-ribose) Polymer eingebauten Radioaktivität. So sind PARP-Assays unter Verwendung von [14C]NAD in JBC 254:9, 3647-3651, 1979; Biochemical Pharmacology 44:5, 947-953, 1992; Analytical Biochemistry 195, 227, 1-13, 1995; JBC 267:3,
- 15 1569-1575, oder unter Verwendung von [α³²P]NAD in Analytical Biochemistry 195, 226-231, 1991; JBC 264:8, 4312-4317, 1989; Anti-Cancer Drug Design 10, 507-514, 1995, oder unter Verwendung von [³H]NAD in JBC 253:18, 6459; 6466, 1978; Eur J Biochem, 102, 43-57, 1979; J Clinical Investigation 77, 1312-1320, 1986, beschrieben.

Diese Methoden sind sowohl aufwendig, in ihrem Durchsatz limitiert, als auch aufgrund der verwendeten Radioaktivität umwelttechnisch und arbeitssichertechnisch problematisch. Der 25 Bedarf an schnellen, nicht-radioaktiven Assay-Systemen ist daher hoch.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung betrifft also ein, homogen oder heterogen durchführbares, in vitro Nachweisverfahren für 30 PARP-Inhibitoren, das dadurch gekennzeichnet, daß man

- a) ein ungeträgertes oder geträgertes Poly-ADP-ribosylierbares Target mit einem Reaktionsgemisch inkubiert, umfassend
 - al) ein PARP;
- a2) einen PARP-Aktivator; und
 - a3) einen PARP-Inhibitor oder einen Analyten, in welchem man wenigstens einen PARP-Inhibitor vermutet;
 - b) die Poly-ADP-Ribosylierungsreaktion durchführt; und
- c) die Poly-ADP-Ribosylierung des Target qualitativ oder quantitativ mit einem Anti-Poly(ADP-ribose)-Antikörper bestimmt.

Vorzugsweise wird das Nachweisverfahren so durchgeführt, daß man das PARP-Homologe mit dem PARP-Aktivator und dem PARP-Inhibitor oder einen Analyten, in welchem man wenigstens einen

PARP-Inhibitor vermutet, vorinkubiert, wie z.B. etwa 1 bis 30 Minuten, bevor man die Poly-ADP-Ribosylierungsreaktion durchführt.

Nach Aktivierung durch DNS mit Einzelstrangbrüchen (erfindungsgemäß bezeichnet als "aktivierte DNS") poly-ADP-ribosyliert PARP eine Vielzahl nukleärer Proteine in Gegenwart von NAD. Zu diesen Proteinen zählt zum einen PARP selber, aber auch Histone etc.

5

Das bei den Nachweisverfahren vorzugsweise verwendete PolyADP-ribosylierbare Target ist ein Histon-Protein in seiner
nativen Form oder ein davon abgeleitetes Poly-ADP-ribosylierbares Äquivalent. Beispielhaft wurde eine Histonpreparation der
10 Firma Sigma verwendet (SIGMA, Katalog-Nr. H-7755; Histone Typ
II-as aus Kalbsthymus Luck JM et al., J. Biol. Chem., 233, 1407(1958), Satake K., et al., J. Biol. Chem., 235, 2801 (1960)).
Im Prinzip können alle Arten von Proteinen oder Teile von diesen
verwendet werden, die einer Poly-ADP-ribosylierung durch PARP
15 zugänglich sind. Dies sind bevorzugterweise nukleäre Proteine,
z.B. Histone, DNA-Polymerase, Telomerase, PARP selber. Auch
synthetische Peptide, die von den entsprechenden Proteinen
abgeleitet sind, können als Target fungieren.

- 20 Es können im ELISA Assay Histonmengen im Bereich von 0,1 μg/well bis 100 μg/well, bevorzugterweise 1 μg/well bis 10 μg/well, verwendet werden. Die PARP Enzymmengen liegen in einem Bereich von 0,2 pMol/well bis 2 nMol/well, bevorzugterweise von 2 pMol/well bis 200 pMol/well; wobei der Reaktionsansatz jeweils 100 μl/well
- 25 ausmacht. Reduzierungen auf kleinere Wells und entsprechend kleinere Reaktionsvolumina sind möglich. Beim HTRF Assay werden identische PARP-Mengen eingesetzt, die Menge an Histon oder modifizierten Histonen liegt im Bereich von 2 ng/well bis 25 μg/well, bevorzugterweise 25 ng/well bis
- 30 2,5 μ g/well; wobei der Reaktionsansatz jeweils 50 μ l/well ausmacht. Reduzierungen auf kleinere Wells und entsprechend kleinere Reaktionsvolumina sind möglich.

Der erfindungsgemäß verwendete PARP-Aktivator ist vorzugsweise **35** aktivierte DNA.

Als Aktivator können diverse Typen geschädigter DNA fungieren. DNA Schädigungen können durch Verdaz mit DNAasen oder anderen DNA modifizierenden Enzymen (z.B. Restriktionsendonukleasen), durch

- 40 Bestrahlung oder andere physikalische Methoden oder chemische Behandlung der DNA erzielt werden. Ferner ist es möglich, mittels synthetischer Oligonukleotide die Situation einer DNA Schädigung gezielt zu simulieren. In den beispielhaft angegebenen Assays wurde aktivierte DNA aus Kalbsthymus (SIGMA, Prod.-Nr. D4522,
- 45 CAS: 91080-16-9, hergestellt nach der Methode von Aposhian und Kornberg unter Verwendung von Kalbsthymus DNA (SIGMA D-1501) und Deoxyribonuklease Typ I (D-4263). Aposhian HV und Kornberg A.,

J. Biol. Chem., 237, 519 (1962)). Verwendet wurde die aktivierte-DNA in einem Konzentrationsbereich von 0,1-1000 μg/ml, bevorzugterweise von 1 bis 100 μ g/ml, im Reaktionsschritt.

5 Die Poly-ADP-Ribosylierungsreaktion wird in den erfindungsgemäßen Verfahren durch Zugabe von NAD+ gestartet.

Die Konzentrationen von NAD lagen in einem Bereich von 0,1 µM bis 10 mM, bevorzugterweise von 10 μ M bis 1 mM.

10

Gemäß der heterogen durchführbaren Variante obigen Verfahrens wird die Poly-ADP-Ribosylierung des geträgerten Target mit Anti-Poly-(ADP-ribose)-Antikörper bestimmt. Dazu trennt man das Reaktionsgemisch vom geträgerten Target ab, wäscht und inkubiert mit

- 15 dem Antikörper. Dieser Antikörper kann selbst markiert sein. Vorzugsweise verwendet man jedoch zum Nachweis von gebundenem Anti-Poly-(ADP-ribose)-Antikörper einen markierten sekundären Antikörper oder ein entsprechendes markiertes Antikörperfragment. Geeignete Markierungen sind z.B. Radiomarkierung, Chromophor-
- 20 oder Fluorophormarkierung, Biotinylierung, Chemilumineszenzmarkierung, Markierung mit paramagnetischem Metall, oder insbesondere Enzymmarkierungen, wie z.B. mit Meerrettich-Peroxidase. Entsprechende Nachweistechniken sind dem Fachmann allgemein bekannt.

- Gemäß der homogen durchführbaren Variante obigen Verfahrens ist das nichtgeträgerte Target mit einem Akzeptor-Fluorophor markiert. Bevorzugt verwendet man dazu als Target biotinyliertes Histon, wobei das Akzeptor-Fluorophor über Avidin oder Strepta-
- 30 vidin an die Biotingruppen des Histons gekoppelt ist. Als Akzeptor-Fluorophor sind insbesondere Phycobiliproteine (z.B. Phycocyanine, Phycoerythrine) geeignet, z.B. R-Phycocyanin (R-PC), Allophycocyanin (APC), R-Phycoerythrin (R-PE), C-Phycocyanin (C-PC), B-Phycoerythrin (B-PE) oder ihre Kombinationen
- 35 untereinander oder mit Fluoreszenzfarbstoffen wie Cy5, Cy7 oder Texas Red (Tandem system) geeignet. (Thammapalerd N. et al., Southeast Asian Journal of Tropical Medicine & Public Health. 27(2):297-303, 1996; Kronick M.N.. et al. Clinical Chemistry. 29(9):1582-6, 1983; Hicks J.M., Human
- 40 Pathology. 15(2):112-6, 1984). Bei dem hier verwendeten Farbstoff XL665 handelt es sich um ein quervernetztes Allophycocyanin (Glazer AN, Rev. Microbiol. 36:173 198 (1982); Kronick M.N., J. Imm. Meth. 92:1 13 (1986); MacColl R et al., Phycobiliproteins, CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. (1987); MacColl
- **45** R. et al., Arch. Biochem. Biophys. 208:1:42 48 (1981)).

Außerdem ist bevorzugt, bei dem homogenen Verfahren die Poly-ADP-Ribosylierung des nicht geträgerten Target mit Anti-Poly-(ADP-ribose)-Antikörper zu bestimmen, der mit einem Donor-Fluorophor markiert ist, das zur Energieübertragung auf das Akzeptor-Fluorophor befähigt ist, wenn Donor und Akzeptor durch Bindung des markierten Antikörpers an das Poly-ADP-ribosylierte Histon in räumliche Nähe gelangen. Vorzugsweise verwendete man ein Europium-Kryptat als Donor-Fluorophor für den Anti-Poly-(ADP-ribose)-Antikörper.

10

Neben den verwendeten Europium-Kyrptat können auch weitere Verbindungen als potentielle Donor-Moleküle auftreten. Hierbei kann zum einen der Kryptatkäfig modifiziert werden. Auch Austausch des Europiums gegen andere Seltenerd-Metalle, wie z.B. Terbium, sind 15 denkbar. Entscheidend ist eine lange Lebensdauer der Fluoreszenz, die die Zeitverzögerung garantiert. (Lopez E. et al., Clin Chem 39/2, 196-201, 1993; US Patent 5,534,622).

Die oben beschriebenen Nachweisverfahren basieren auf dem

20 Prinzip, daß die Aktivität von PARP mit der Menge der an den
Histonen gebildeten ADP-ribose-Polymeren korreliert. Der hier
beschriebene Assay ermöglicht die Quantifizierung der ADP-ribose
Polymere mittels spezifischer Antikörper in Form eines ELISAund eines HTRF-(homogenous time-resolved fluorescence; homogene

25 zeit-aufgelöste Fluoreszenz) Assays. Konkrete Ausführungsformen
dieser beiden Tests sind in den folgenden Ausführungsbeispielen
näher beschrieben.

Das entwickelte HTRF-Testsystem (HTRF = homogeneous time-resolved 30 fluorescence) mißt die Bildung von Poly-(ADP-Ribose) an Histonen mittels spezifischer Antikörper. Im Unterschied zum ELISA wird dieser Test in homogener Phase ohne Separations- und Waschschritte durchgeführt. Dies ermöglicht einen höheren Probendurchsatz und eine geringere Fehleranfälligkeit. HTRF basiert 35 auf dem "Fluoresenz Resonanz Energie Transfer" (FRET) zwischen zwei Fluorophoren. In einem FRET Assay kann ein angeregtes Donor-Fluorophor seine Energie auf ein Akzeptor-Fluorophor übertragen, wenn sich die beiden in einer räumlichen Nähe befinden. In der HTRF-Technologie ist das Donor-Fluorophor ein Europium-Kryptat 40 [(Eu)K] und der Akzeptor ist XL665, ein stabilisiertes Allophycocyanin. Das Europium-Kryptat basiert auf Arbeiten von Jean Marie Lehn (Strasbourg). (Lopez E. et al., Clin Chem 39/2, 196-201, 1993; US Patent 5,534,622).

45 In einem homogenen Assay sind alle Komponenten auch während der Messung anwesend. Während dies Vorteile bei der Assaydurchführung bringt (Schnelligkeit, Aufwand), müssen Störungen durch Assay-

komponenten (Eigenfluoreszenz, Quenching durch Farbstoffe etc.) ausgeschlossen werden. HTRF schließt diese Störungen durch eine zeitverzögerte Messung bei zwei Wellenlängen (665 nm, 620 nm) aus. Die HTRF-Fluoresenz hat eine sehr lange Abklingzeit und kann 5 daher zeitverzögert gemessen werden. Jegliche interferierende, kurzlebige Hintergrundfluoreszenz (z.B. durch Assaykomponenten oder Inhibitoren der Substanzbank) stört hier nicht mehr. Darüber hinaus wird permanent bei zwei Wellenlängen gemessen, um "Quench-Effekte" farbiger Substanzen zu kompensieren. HTRF Assays sind 10 z.B. im 96- or 384-well Mikrotiterplattenformat realisierbar und werden mit einem "Discovery HTRF Microplate Analyzer" (Packard -Instruments) ausgewertet.

Erfindungsgemäß werden außerdem die folgenden in vitro-Screening-15 verfahren auf Bindungspartner für PARP bereitgestellt.

Eine erste Variante wird so durchgeführt, daß man

- al) PARP an einem Träger immobilisiert;
- 20 bl) das immobilisierte PARP-Homologe mit einem Analyten in Kontakt bringt, in welchem man wenigstens einen Bindungspartner vermutet; und
 - c1) an das immobilisierte PARP gebundene Bestandteile des Analyten, gegebenenfalls nach einer Inkubationsphase, bestimmt.

Gemäß einer zweiten Variante wird

25

35

- a2) ein Analyt, welcher wenigstens einen möglichen Bindungs-30 partner für PARP enthält, an einem Träger immobilisiert;
 - b2) der immobilisierte Analyt mit wenigsten einem PARP in Kontakt gebracht, für welches man einen Bindungspartner sucht; und
 - c3) der immobilisierte Analyt wird, gegebenenfalls nach einer Inkubationsphase, auf die Bindung des PARP untersucht.

Testsysteme für die Bestimmung der von Aktivität des Enzyms und PARP-artigen Enzymen und der Inhibitorischen Wirkung von Effektoren auf PARP und PARP-artigen Enzymen.

40 a) Herstellung von Antikörpern gegen Poly-(ADP-ribose)

Als Antigen zur Generierung von Anti-Poly-(ADP-ribose) Antikörpern kann Poly-(ADP-ribose) verwendet werden. Die Herstellung von Anti-Poly-(ADP-ribose) Antikörpern ist in der Literatur be-

45 schrieben. (Kanai Y. et al. (1974) Biochem Biophys Res Comm 59:1, 300-306; Kawamaitsu H. et al. (1984) Biochemistry 23, 3771-3777; Kanai Y et al. (1978) Immunology 34, 501-508).

Unter anderem wurden verwendet: Anti Poly-(ADP-ribose)-Antikörper (polyklonales Antiserum, Kaninchen), BIOMOL; Best.-Nr. SA-276. Anti Poly-(ADP-ribose)-Antikörper (monoklonal, Maus; Klon 10H; Hybriomaüberstand, affinitätsgereinigt).

5

Die Antiseren oder aus Hybridomakulturüberstand gewonnenen monoklonalen Antikörper wurden durch eine Protein-A-Affinitätschromatographie in der dem Fachmann geläufigen Weise aufgereinigt.

10

b) ELISA-Assay

Materialien:

15 ELISA Farbreagenz: TMB-Fertigmix SIGMA T-8540

Eine 96-well Mikrotiterplatte (FALCON Micro-Test IIIä Flexible Assay Plate, # 3912) wurde mit Histonen (SIGMA, H-7755) beschichtet. Histone wurden hierfür in Carbonatpuffer (0,05 M Na₂HCO₃;

- 20 pH 9,4) in einer Konzentration von 50 μg/ml gelöst. Die einzelnen Wells der Mikrotiterplatte wurden mindestens 2 Stunden bei Raumtemperatur oder über Nacht bei 4°C mit je 150 µl dieser Histon-Lösung inkubiert. Anschließend werden die Wells durch Zugabe von 150 µl einer 1%igen BSA-Lösung (SIGMA, A-7888) in Carbonatpuffer
- 25 für 2 Stunden bei Raumtemperatur blockiert. Es folgen drei Waschschritte mit Waschpuffer (0,05 % Tween10 in 1x PBS; PBS (Phosphate buffered saline; Gibco, Best.-Nr. 10010): 0,21 g/1 KH_2PO_4 , 9 g/l NaCl, 0,726 g/l Na₂HPO₄ · 7H₂O, pH 7,4). Waschschritte wurden durchweg mit einem Mikrotiterplatten-Wasch-
- 30 gerät durchgeführt (Mikrotiterplatten-Wäscher "Columbus", SLT-Labinstruments, Österreich).

Für die Enzymreaktion wurden eine Enzymreaktionslösung und eine Substratlösung jeweils als "Pre-Mix" benötigt. Die absolute Menge 35 dieser Lösungen richtete sich nach der Anzahl der vorgesehenen Test-Wells.

Zusammensetzung der Enzymreaktionslösung pro Well:

- 40 -4 μl PARP-Reaktionspuffer (1 M Tris-HCl pH 8,0, 100 mM MgCl₂, 10 mM DTT)
 - 20 ng PARP (human oder bovin)
 - 4 μl aktivierte DNA (1 mg/ml; SIGMA, D-4522)
 - ad 40 μ l H₂O

WO 00/26192

Zusammensetzung der Substrat-Lösung pro Well:

- 5 μ l PARP-Reaktionspuffer (10x)
- 0,8 μl NAD-Lösung (10 mM, SIGMA N-1511)
- $5 44 \mu l H_2O$

Inhibitoren wurden in 1x PARP-Reaktionspuffer gelöst. DMSO, das gelegentlich zum Lösen von Inhibitoren in höheren Konzentrationen verwendet wurde, war bis zu einer Endkonzentration von 2 %

- 10 unproblematisch. Für die Enzymreaktion wurden 40 μl der Enzymreaktionslösung pro Well vorgelegt und mit 10 μl Inhibitor-Lösung für 10 Minuten inkubiert. Anschließend wurde die Enzymreaktion durch Zugabe von 50 μl Substrat-Lösung pro Well gestartet. Die Reaktion wurde 30 Minuten bei Raumtemperatur durchgeführt und
 15 anschließend durch dreimaliges Waschen mit Waschpuffer gestoppt.
 - Als primäre Antikörper wurden spezifische Anti-Poly-(ADP-ribose) Antikörper in einer 1:5000 Verdünnung eingesetzt. Die Verdünnung erfolgte in Antikörper-Puffer (1 % BSA in PBS; 0.05 % Tween20).
- 20 Die Inkubationszeit für den primären Antikörper betrug eine Stunde bei Raumtemperatur. Nach anschließendem dreimaligem Waschen mit Waschpuffer erfolgte eine einstündige Inkubation bei Raumtemperatur mit dem sekundärem Antikörper (Anti-Maus-IgG, Fab-Fragmente, Peroxidase gekoppelt, Boehringer Mannheim,
- 25 Best.-Nr. 1500.686; Anti-Rabbit-IgG, Peroxidase gekoppelt, SIGMA, Best.-Nr. A-6154) in einer 1:10000 Verdünnung in Antikörper-puffer. Nach dreimaligem Waschen mit Waschpuffer folgte die Farbreaktion unter Verwendung von 100 μl Farbreagenz (TMB-Fertigmix, SIGMA) pro Well für ca. 15 min. bei Raumtemperatur. Die
- 30 Farbreaktion wurde durch Zugabe von 100 μ l 2M H_2SO_4 gestoppt. Danach wurde sofort im ELISA-Platten-Lesegerät ("Easy Reader" EAR340AT, SLT-Labinstruments, Österreich) gemessen (450 nm gegen 620 nm).
- 35 Für die Ermittlung des K_i -Wertes eines Inhibitors wurden verschiedene Konzentrationen zur Erstellung einer Dosis-Wirkungskurve herangezogen. Für eine bestimmte Inhibitorkonzentration werden 3fach-Werte erhoben. Arithmetische Mittelwerte werden mit Microsoft[©] Excel ermittelt. Die IC₅₀-Bestimmung erfolgt mit
- 40 der Microcal[©] Origin Software (Vers. 5.0) ("Sigmoidal Fit"). Umrechnung der so berechneten IC₅₀-Werte auf K_i-Werte erfolgte durch Verwendung von "Eich-Inhibitoren". Die "Eich-Inhibitoren" wurden bei jeder Analyse mitgemessen. Der K_i-Werte der "Eich-Inhibitoren" wurde im gleichen Testsystem durch Dixon-Diagramm
- 45 Analyse in der dem Fachmann geläufigen Weise ermittelt.

WO 00/26192 PCT/EP99/

b) HTRF-(Homogenous time-resolved fluorescence) Assay

Beim erfindungsgemäßen HTFR-PARP-Assay werden Histone als Zielproteine der Modifikation durch PARP indirekt mit einem 5 XL665-Fluorophor markiert. Der Antikörper wird direkt mit einem Europium-Kryptat markiert. Befindet sich das XL665-Fluorophor in einer unmittelbaren räumlichen Nähe, die durch eine Bindung an die Poly-(ADP-ribose) am Histon gewährleistet wird, dann ist eine Energieübertragung möglich. Die Emission bei 665 nm ist somit direkt proportional zu der Menge an gebundenem Antikörper, der wiederum der Poly-(ADP-ribose) Menge entspricht. Somit entspricht das gemessene Signal der PARP Aktivität. Die verwendeten

Materialien sind, wenn nicht ausdrücklich angegeben, identisch

mit denen im ELISA Assay (s.o.) verwendeten.

15

Histone wurden in Hepes-Puffer (50 mM, pH = 7,5) zu 3 mg/ml gelöst. Biotinylierung erfolgte mit Sulfo-NHS-LC-Biotin (Pierce, # 21335T). Ein molares Verhältnis von 4 Biotin pro Histon wurde verwendet. Die Inkubationszeit betrug 90 Minuten (RT). Anschlie-

- 20 ßend wurden die biotinylierten Histone über eine G25 SF HR10/10 Säule (Pharmacia, 17-0591-01) in Hepes Puffer (50 mM, pH = 7,0) aufgereinigt, um überschüssiges Biotinylierungsreagenz zu entfernen. Der Anti-Poly-(ADP-ribose)-Antikörper wurde mittels bifunktionaler Kopplungsreagenzien mit Europium-Kryptat markiert.
- 25 (Lopez E. et al. Clin. Chem. 39/2, 196-201, 1993 US P 5,534,662) Die Reinigung erfolgte auf einer G25SF HR10/30 Säule. Ein molares Verhältnis von 3,1 Kryptaten pro Antikörper wurde erzielt. Die Ausbeute betrug 25 %. Die Konjugate wurden in Gegenwart von 0,1 % BSA in Phosphatpuffer (0,1 M, pH = 7) bei -80°C gelagert.

30

35

Für die Enzymreaktion wurden pro Well zusammenpipettiert:

- 10 μl PARP-Lösung in PARP-HTRF-Reaktionspuffer (50 mM Tris-HCl pH 8,0, 10 mM MgCl2, 1 mM DTT) mit 20 ng PARP (human oder bovin)
- 10 μl aktivierte DNA in PARP-HTRF-Reaktionspuffer (50 μg/ml)
- 10 μl biotinylierte Histone in PARP-HTRF-Reaktionspuffer
 (1,25 μΜ)
- 10 μl Inhibitor in PARP-HTRF-Reaktionspuffer

40

Diese Reagenzien wurden 2 Minuten vorinkubiert, bevor die Reaktion durch Zugabe von

- 10 μ l NAD-Lösung in PARP-HTRF-Reaktionspuffer (41 μ M/ml) gestartet wurde. Die Reaktionszeit betrug 30 Minuten bei Raumtemperatur.

Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von

- 10 μ l PARP-Inhibitor (25 μ M, K_i = 10 nM) in "Revelation"-Puffer (100 mM Tris-HCl pH 7,2, 0,2 M KF, 0,05 % BSA)

5
gestoppt.

Danach wurden zugegeben:

- **10** 10 μl EDTA-Lösung (SIGMA, E-7889, 0,5 M in H₂O)
 - 100 μ l Sa-XL665 (Packard Instruments) in "Revelation"-Puffer (15-31,25 nM)
 - 50 μl Anti-PARP-Kryptat in "Revelation"-Puffer (1,6-3,3 nM).
- 15 Nach 30 Minuten (bis 4 Stunden) konnte dann gemessen werden. Die Messung erfolgte auf einem "Discovery HTRF Microplate Analyzer" (Packard Instruments). Die Berechnung der K_i-Werte erfolgte wie beim ELISA Assay beschrieben.
- 20 Bestimmung des Wasserlöslichkeit

Eine zu messende Verbindung wird direkt in einem festgelegten Volumen Wasser gelöst und die entstandene Lösung mit einer Natriumacetat-Lösung auf pH 5 bis 6 eingestellt, so daß die zu 25 prüfende Konzentration des Wirkstoffs erreicht wird. Falls die Meßsubstanz nicht als wasserlösliches Salz vorliegt, wurde diese in möglichst wenig Dimethylsulfoxid gelöst und anschließend mit Wasser verdünnt (Endkonzentration an Dimethylsulfoxid ≤ 1 %), wonach auch hier der pH-Wert noch eingestellt wurde. Der potente 30 PARP-Inhibitor NU 1076 (WO 97/04771) zeigte hier eine Löslichkeit < 0,01 %, wogegen das erfindungsgemäße Beispiel 2 eine Löslichkeit > 0,5 % aufweist.

Die substituierten 2-Phenylbenzimidazole der allgemeinen
35 Formeln I stellen Inhibitoren der Poly(ADP-ribose)polymerase
(PARP) bzw. wie es auch genannt wird Poly(ADP-ribose)synthase
(PARS) dar und können somit zur Behandlung und Prophylaxe von
Krankheiten, die mit einer erhöhten Enzymaktivität dieser Enzyme
verbunden sind, dienen.

Die Verbindungen der Formeln I können zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Schädigungen nach Ischämien und zur Prophylaxe bei erwarteten Ischämien verschiedener Organe eingesetzt werden.

WO 00/26192 PCT/EP99/08169

Die vorliegenden 2-Phenylbenzimidazole der allgemeinen Formel I können danach zur Behandlung und Prophylaxe von neurodegenerativen Krankheiten, die nach Ischämie, Trauma (Schädel-Hirntrauma), Massenblutungen, Subarachnoidal-Blutungen und Stroke 5 auftreten, und von neurodegenerativen Krankheiten, wie multipler Infarkt-Dementia, Alzheimer Krankheit, Huntington Krankheit und von Epilepsien, insbesondere von generalisierten epileptischen Anfällen, wie zum Beispiel Petit mal und tonisch-clonische Anfälle und partiell epileptischen Anfällen, wie Temporal Lope, 10 und komplex-partiellen Anfällen, und weiterhin zur Behandlung und Prophylaxe von Schädigungen des Herzens nach cardialen Ischämien und Schädigungen der Nieren nach renalen Ischämien, zum Beispiel der akuten Niereninsuffizienz, des akuten Nierenversagens oder von Schädigungen, die während und nach einer 15 Nierentransplantation auftreten, dienen. Weiterhin können die Verbindungen der allgemeinen Formel I zur Behandlung des akuten Myocardinfarkts und Schädigungen, die während und nach dessen medikamentöser Lyse auftreten (zum Beispiel mit TPA, Reteplase, Streptokinase oder mechanisch mit einem Laser oder Rotablator), 20 und von Mikroinfarkten während und nach Herzklappenersatz,

Aneurysmenresektionen und Herztransplantationen dienen. Ebenfalls können die vorliegenden 2-Phenylbenzimidazole I zur Behandlung einer Revascularisation kritisch verengter Koronaraterien, zum Beispiel bei der PCTA und Bypass-Operationen, und kritisch ver-

25 engter peripherer Arterien, zum Beispiel Beinarterien, dienen. Zudem können die 2-Phenylbenzimidazole I bei der Chemotherapie von Tumoren und deren Metastasierung nützlich sein und zur Behandlung von Entzündungen und rheumatischen Erkrankungen, wie z.B. rheumatischer Arthritis, dienen.

30

Neue PARP-Inhibitoren können in relevanten pharmakologischen Modellen auf ihre therapeutische Wirksamkeit überprüft werden. Beispiele für einige geeignete Modelle sind dazu in Tabelle 1 aufgeführt.

35

Tabelle 1

	Krankheit	Modell	Literatur
5	Neurodegenerative Erkrankungen (Schlaganfall, Parkinson etc.)	NMDA-Exzitotoxizi- tät in der Maus oder Ratte	·
10	Schlaganfall	Permanente MCAO("middle cerebral artherial occlusion")	Tokime T. et al., J. Cereb Blood Flow Ketab, 18(9):991-7, 1998 Guegan C. Brain Research. Molecular Brain Research 55(1) 133-40, 1998
15		Transiente, fokale MCAO in ratte oder Maus	Eliasson MJL et al., Nat Med 1997, 3:1089-1095. Endres M. et al., J. Cereb Blood Flow Metab 1997, 17:1143-1151.
20			Takahashi K. et al., J. Cereb Blood Flow Metab 1997, 17:1137-1142.
25	Parkinsonsche Krankheit	MPTP (1-Methyl- 4-phenyl-1,2,3,6- tetrahydro-pyridin) Toxizität in der Maus/Ratte	Cosi C. et al., Brain Res., 1998 809(1):58-67. Cosi C. et al., Brain Res., 1996 729(2):264-9.
	Herzinfarkt	Koronargefäß- Okklusion an Ratte, Schwein oder	Richard V. et al., Br. J. Pharmacol 1994, 113, 869-876.
30		Kaninchen	Thiemermann C. et al., Proc Natl Acad Sci USA. 1997, 94(2):679-83.
			Zingarelli B. et al., Cardiovasc Res. 1997, 36(2):205-15.
35		Langendorfherz- modell an Ratte oder Kaninchen	Beschreibung siehe unten
	Septischer Schock	Endotoxin Schock in der Ratte	Szabo C. et al., J. Clin Invest, 1997, 100(3):723-35.
&0		Zymosan oder Carrageenan indu- ziertes multiples Organversagen in Ratte oder Maus	Szabo C. et al. J. Exp Med. 1997, 186(7):1041-9. Cuzzocrea S. et al. Eur J. Pharmacol. 1998, 342(1):67-76.
45	Rheumatoide Arthritis	Adjuvant oder Collagen induzierte Arthritis in Ratte oder Maus	Szabo C. et al., Proc Natl Acad Sci USA. 1998, 95(7):3867-72.

	Krankheit	Modell	Literatur			
5	Diabetes	Streptozotocin und Alloxan induiziert bzw. Obesity assoziert	Uchigata Y. et al., Diabetes 1983, 32: 316-318. Masiello P. et al., Dia-betologia 1985, 28: 683-686. Shimabukuro M. et al., J. Clin Invest 1997, 100: 290-295.			
	Krebs		Schlicker et al. 1999 - 75:1, 91-100			

Die erfindungsgemäßen Arzneimittelzubereitungen enthalten neben 15 den üblichen Arzneimittel-Hilfsstoffen eine therapeutisch wirksame Menge der Verbindungen I.

Für die lokale äußere Anwendung, zum Beispiel in Puder, Salben oder Sprays, können die Wirkstoffe in den üblichen Konzen20 trationen enthalten sein. In der Regel sind die Wirkstoffe in einer Menge von 0,001 bis 1 Gew.-%, vorzugsweise 0,001 bis 0,1 Gew.-%, enthalten.

Bei der inneren Anwendung werden die Präparationen in Einzeldosen 25 verabreicht. In einer Einzeldosis werden pro kg Körpergewicht 0,1 bis 100 mg gegeben. Die Zubereitungen können täglich in einer oder mehreren Dosierungen je nach Art und Schwere der Erkrankungen verabreicht werden.

- 30 Entsprechend der gewünschten Applikationsart enthalten die erfindungsgemäßen Arzneimittelzubereitungen neben dem Wirkstoff die üblichen Trägerstoffe und Verdünnungsmittel. Für die lokale äußere Anwendung können pharmazeutisch-technische Hilfsstoffe, wie Ethanol, Isopropanol, oxethyliertes Ricinusöl, oxethyliertes Hydriertes Ricinusöl, Polyacrylsäure, Polyethylenglykol, Polyethylenglykostearat, ethoxylierte Fettalkohole, Paraffinöl, Vaseline und Wollfett, verwendet werden. Für die innere Anwendung eignen sich zum Beispiel Milchzucker, Propylenglykol, Ethanol, Stärke, Talk und Polyvinylpyrrolidon.
- Ferner können Antioxidationsmittel wie Tocopherol und butyliertes Hydroxyanisol sowie butyliertes Hydroxytoluol, geschmacks-verbessernde Zusatzstoffe, Stabilisierungs-, Emulgier- und Gleitmittel enthalten sein.

 45

Die neben dem Wirkstoff in der Zubereitung enthaltenen Stoffe sowie die bei der Herstellung der pharmazeutischen Zubereitungen verwendeten Stoffe sind toxikologisch unbedenklich und mit dem jeweiligen Wirkstoff verträglich. Die Herstellung der Arznei-5 mittelzubereitungen erfolgt in üblicher Weise, zum Beispiel durch Vermischung des Wirkstoffes mit anderen üblichen Trägerstoffen und Verdünnungsmitteln.

Die Arzneimittelzubereitungen können in verschiedenen 10 Applikationsweisen verabreicht werden, zum Beispiel peroral, parenteral wie intravenös durch Infusion, subkutan, intraperitoneal und topisch. So sind Zubereitungsformen wie Tabletten, Emulsionen, Infusions- und Injektionslösungen, Pasten, Salben, Gele, Cremes, Lotionen, Puder und Sprays möglich.

15

Beispiel 1

2(4(2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yloxy)phenyl)-benzimidazol-4carbonsäureamid

20

25

4(2-(N,N-Diethylaminoeth-1-yloxy)-benzaldehyd

15 g (122 mMol) 4-Hydroxybenzaldehyd, 16,7 g (122 mMol) 30 N(2-Chlorethyl)-N, N-diethylamin und 33,9 g (246 mMol) Kaliumkarbonat wurden zusammnen mit einer Spatelspitze 18-Krone-6 in 300 ml Ethylmethylketon für 6 Stunden unter Rückfluß gekocht. Anschließend wurde filtriert und das Filtrat im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde zwischen Ether und 2 M Natron-35 lauge verteilt, die Ether-Phase abgetrennt, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Man erhielt 24,8 g des Zwischenproduktes.

b) 2(4(2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yloxy)phenyl)-benzimidazol-4carbonsäureethylester

40

45

2 g (11 mMol) 2,3-Diaminobenzoesäureethylester und 1,4 ml konzentrierte Essigsäure wurden in 25 ml Methanol gelöst. Anschließend wurden 3,2 g (14,4 mMol) der Zwischenverbindung la, gelöst in 50 ml Methanol, innerhalb von 30 Minuten zugetropft. Danach wurden 2,9 g (14,4 mMol) Kupfer-II-acetat, gelöst in 37,5 ml warmen Wasser, zügig zugetropft und anschließend alles für 20 Minuten unter Rückfluß gekocht. Man

kühlte die Reaktionslösung auf 50oC und gab 4,5 ml 32%iger -Salzsäure zu. Danach tropfte man noch vorsichtig eine Lösung aus 4,3 g Natriumsulfid-Hydrat in 25 ml Wasser zu und rührte alles noch für 15 Minuten. Die Reaktionslösung wurde auf Eiswasser gegossen und der anfallende Niederschag abgesaugt. Das Filtrat wurde mit wäßriger Natriumhydrogenkarbonat-Lösung alkalisch gestellt und mehrmals mit Essigester extrahiert. Die Essigester-Phase wurde abgetrennt, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Man erhielt 4,4 g des Zwischenproduktes.

10

5

- 2(4(2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yloxy)phenyl)-benzimidazol-4c) carbonsäurehydrazid
- Zu 4,1 g (10,7 mMol) der Zwischenverbindung 1b in 30 ml Ethanol wurden 2,7 g (54 mMol) hydrazinhydrat gegeben und 15 alles für 10 Stunden unter Rückfluß gekocht. Anschließend wurde das organische Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand zwischen Wasser und Essigester verteilt. Die Essigester-Phase wurde abgetrennt, getrocknet und im Vakuum 20 eingeengt. Der so erhaltene Rückstand wurde noch mit Ether behandelt und erneut abgesaugt, wonach man 1.7g der Zwischenverbindung.
- 2(4(2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yloxy)phenyl)-benzimidazol-4d) 25 carbonsäureamid

Zu 1,6 g (4,5 mMol) der Zwischenverbindung 1c in 45 ml Dimethylformamid/Wasser (2/1) wurden ca. 1,6 g Raney-Nickel gegeben und alles für 6 Stunden auf 100°C erwärmt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch filtriert und das Filtrat mit viel Wasser verdünnt, wobei das Produkt ausfiel.

Man erhielt 1,2 g des Produktes.

¹H-NMR (D₆-DMSO). $\delta = 0.95(6H)$, 2,6(4H), 2,8(2H), 4,1(2H), 7,1(2H), 7,3(1H), 7,7(1H + NH), 7,85(1H), 8,2(2H) und 9,435 (NH)ppm.

40

Beispiel 2

2(4(2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yloxy)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x 2 Hydrochlorid

5

10

0,2g des Produktes aus Beispiel 1 wurden in einem Gemisch aus Essigester und wenig Tetrahydrofuran gelöst und mit etherischer Chlorwasserstoff-Lösung versetzt, wobei sich ein Niederschlag 15 bildet. Dieser Niederschlag wurde abgesaugt, mit Aceton aufgeschlämmt und erneut abgesaugt, wonach man ca. 200 mg des

 $^{1}\text{H-NMR}$ (D₆-DMSO). δ = 1,2(6H), 3,2(4H), 3,3(2H), 4,5(2H), 7,25(1H), 7,4(1H), 7,8-7,9(2H), 8,3(2H), 9,0(NH) und 10,5 (NH) 20 ppm.

Beispiel 3

Produktes erhielt.

2(3(2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yloxy)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid

25

- a) 3(2-(N,N-Diethylaminoeth-1-yloxy)-benzaldehyd
- 6,1 g (50 mMol) 3-Hydroxybenzaldehyd wurden in 100 ml Ethanol gelöst und 3,5 g (50 mMol) Natriumethanolat zugegeben. Man rührte alles für 15 Minuten. Danach wurden 7,5 g (55 mMol) N(2-Chlorethyl)-N,N-diethylamin zugefügt und alles für 12 Stunden unter Rückfluß gekocht. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde daanch zwischen Ether und 1M Natronlauge verteilt, die Ether-Phase abgetrennt, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Man erhielt 7.6g des Zwischenproduktes.

PCT/EP99/08169 WO 00/26192 35

2(3(2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yloxy)phenyl)-benzimidazol-4carbonsäureethylester

- 1 g (5,5 mMol) 2,3-Diaminobenzoesäureethylester und 0,68 ml 5 konzentrierte Essigsäure wurden in 20 ml Methanol gelöst. Anschließend wurden 1,6 g (7,2 mMol) der Zwischenverbindung 3a, gelöst in 30 ml Methanol, innerhalb von 30 Minuten zugetropft. Danach wurden 1,1 g (5,5 mMol) Kupfer-II-acetat, gelöst in 19 ml warmen Wasser, zügig zugetropft und an-
- 10 schließend alles für 20 Minuten unter Rückfluß gekocht. Man kühlte die Reaktionslösung auf 50oC und gab 2,25 ml 32%iger Salzsäure zu. Danach tropfte man noch vorsichtig eine Lösung aus 2,13 g Natriumsulfid-Hydrat in 15 ml Wasser zu und rührte alles noch für 15 Minuten. Die Reaktionslösung wurde auf Eis-
- 15 wasser gegossen und der anfallende Niederschag abgesaugt. Das Filtrat wurde mit wäßriger Natriumhydrogenkarbonat-Lösung alkalisch gestellt und mehrmals mit Essigester extrahiert. Die Essigester-Phase wurde abgetrennt, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Man erhielt 2,4 g des Zwischenproduktes.

C) 2(3(2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yloxy)phenyl)-benzimidazol-4carbonsäurehydrazid

Zu 2,3 g (6,0 mMol) der Zwischenverbindung 3b in 30 ml 25 Butanol wurden 1,5 g (30 mMol) hydrazinhydrat gegeben und alles für 10 Stunden auf 120°C erwärmt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch mit viel Wasser verdünnt und mit Essigester extrahiert. Die Essigester-Phase wurde abgetrennt, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Man erhielt 1,7 g der 30 Zwischenverbindung.

- 2(3(2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yloxy)phenyl)-benzimidazol-4carbonsäureamid
- 35 Zu 1 g (2,7 mMol) der Zwischenverbindung 3c in 30 ml Dimethylformamid/Wasser (2/1) wurden ca. 1,5 g Raney-Nickel gegeben und alles für 6 Stunden auf 100°C erwärmt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch filtriert und das Filtrat mit viel Wasser verdünnt, wobei das Produkt ausfiel.
- 40 Man erhielt 0,74 g des Produktes. ¹H-NMR (D₆-DMSO). $\delta = 1,0(6H), 2,6(4H), 2,9(2H), 4,15(2H),$ 7,1(1H), 7,4(1H), 7,5(1H), 7,7-7,9 (5H) und 9,3 (NH) ppm.

2(3(2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yloxy)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x 2 Hydrochlorid

5

10

0,2 g des Produktes aus Beispiel 3 wurden in einem Gemisch aus 15 Essigester und Tetrahydrofuran gelöst und mit etherischer Chlorwasserstoff-Lösung versetzt, wobei sich ein Niederschlag bildet. Dieser Niederschlag wurde abgesaugt, mit Aceton aufgeschlämmt und erneut abgesaugt, wonach man ca. 200 mg des Produktes erhielt. 1 H-NMR (D₆-DMSO). δ = 1,3(6H), 3,2(4H), 3,6(2H), 4,6(2H),

20 7,2-8,1(8H), 9,0(1H), und 10,8(NH) ppm.

Analog dem Beispiel 1 wurden hergestellt:

Beispiel 5

25 2(3(2-(N,N-Dimethylamino)eth-1-yloxy)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid

30

35 $^{1}\text{H-NMR}$ (D₆-DMSO). δ = 2,2(6H), 2,7(2H), 4,2(2H), 7,0-8,0(9H) und 9,3(1H) ppm.

2(3(2-(N,N-Dimethylamino)eth-1-yloxy)-4-methoxy-phenyl)-benz-imidazol-4-carbonsäureamid

5

$$\begin{array}{c|c} CONH_2 & O - N \\ \hline N & O - N \\ \hline N$$

10

¹H-NMR (D₆-DMSO). δ = 2,25(6H), 2,75(2H), 3,8(3H), 4,1(2H), 7,0-8,1(8H) und 9,4(1H) ppm.

15

Beispiel 7

2(3(2-(N,N-Dimethylamino)eth-1-yloxy)-4-methoxy-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x 2 HCl

20

25

¹H-NMR (D₂O): $\delta = 3.0(6\text{H})$, 3.7(2H), 3.8(3H), 4.3(2H), 6.9(1H), 7.3(1H), 7.3-7.5(3H) und 7.7(3H) ppm.

30 Beispiel 8

2(2(2-(N,N-Dimethylamino)eth-1-yloxy)-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x 2 HCl

35

40

¹H-NMR (D₆-DMSO): δ = 2,9(6H), 3,7(2H), 4,7(2H), 7,2-8,3(8H), 8,9(breit) und ca 11(breit) ppm.

2(3(2-(N,N-Dimethylamino)eth-1-yloxy)-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x 2 Hydrochlorid

5

10

¹H-NMR (D₆+DMSO): δ = 2,9(6H), 3,5(2H), 4,5(2H), 7,2-8,1(8H), 9,0(breit) und ca 10,8(breit) ppm.

15 Beispiel 10

2(3(3-(tert.-Butoxycarbonylamino)prop-1-yloxy)-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid

20

25

¹H-NMR (D₆-DMSO): δ = 1,3(9H), 1,9(2H), 3,1(2H), 4,1(2H), 6,9-8,0(9H) und ca 9,3(breit) ppm.

Beispiel 11

30 2(3(3-(tert.-Butoxycarbonylamino)eth-1-yloxy)-phenyl)-benz-imidazol-4-carbonsäureamid

35

40 ¹H-NMR (D₆-DMSO): δ = 1,3(9H), 3,3(2H), 4,1(2H), 7,0-8,0(9H) und ca 9,3(breit) ppm.

2(3(3-(4(3-Chlorphenyl)piperazin-1-yl)prop-1-yloxy)-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid

5

10

 $^{1}\text{H-NMR}$ (D₆-DMSO): δ = 2,3(2H), 3,3-3,5(6H), 3,7(2H), 3,7-4,3(6H), **15** 6,9-8,0(11H), 9,1(breit) und ca 10,9(breit) ppm.

Beispiel 13

2(3(3-(N,N-Diethylamino)prop-1-yloxy)-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x 2 HCl

20

25

 $^{-1}H-NMR$ (D₆-DMSO): δ = 1,2(6H), 2,2(2H), 3,2(4H), 3,8(2H), 4,3(2H), 7,1-8,0(7H), 9,1(breit) und ca 10,5(breit) ppm.

30

Beispiel 14

2(3(3-Aminoprop-1-yloxy)-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x 2HCl

35

40

¹H-NMR (D₆-DMSO): δ = 2,1(2H), 3,0(2H), 4,2(2H), 7,2(1H), 7,5(2H), 7,8-8,1(6H), 8,2(breit) und ca 8,9(breit) ppm.

2(3(2-Aminoeth-1-yloxy)-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x 2HC1

5

10

 $^{1}H-NMR$ (D₆-DMSO): δ = 3,2(2H), 4,2(2H), 7,1-8,0(9H), 8,2(breit) und 9,0(breit) ppm.

Folgende Beispiele können analog der obigen Vorschriften her-15 gestellt werden.

Beispiel 16

2(4(3-(N,N-Diethylamino)prop-1-yloxy)-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x 2 HCl

20 ¹H-NMR (D₆-DMSO): δ = 1,3(6H), 2,2(2H), 3,2(6H), 4,2(2H), 7,5(1H), 7,8-8,0(3H), 8,35(2H), 8,9(1H) und 10,7(breit) ppm.

Beispiel 17

1-(3(N,N-Diethylamino)-prop-1-y1)-2(4(3-(N,N-diethylamino)prop-

- 25 1-yloxy)-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x 2 HCl 1 H-NMR (D₆-DMSO): δ = 1,1-1,3(12H), 2,2(4H), 2,9-3,3(12H), 4,2(2H), 4,5(2H), 7,2(2H), 7,6(1H), 7,8-8,1(3H), 8,4(1h), 8,9(1H)und 11,0(breit) ppm.
- 30 Beispiel 18

2(4(2-(Pyrrolidin-1yl)-eth-1-yloxy)-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x 2 HCl

 $^{1}\text{H-NMR}$ (D₆-DMSO): δ = 1,3(1H), 1,7-2,0(5H), 3,0(2H), 3,5(4H), 4,5(2H), 7,2(2H), 7,3(1H), 7,7-8,0(3H), 8,2(2H), 8,9(breit) und

35 10,7(breit) ppm.

Beispiel 19

1-(3(Pyrrolidin-1-y1)-prop-1-y1)-2(4(2-(pyrrolidin-1y1)-eth-1-yloxy)-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x 2 HCl

40 ¹H-NMR (D₆-DMSO): δ = 1,3(2H), 1,7-1,9(10H), 3,0(4H), 3,3-3,6(8H), 4,5(2H), 4,9(2H), 7,1(2H), 7,5(1H), 7,7-8,0(3H), 8,1(2H), 9,0(breit), 10,8(breit) und 11,2(breit) ppm.

Beispiel 20

45 2(4(3(N, N-Benzylmethylamino)-prop-1-yloxy)-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x 2 HCl

1(3(N, N-Benzylmethylamino)-prop-1-yl)-2(4(3(N, N-benzylmethylamino)-prop-1-yloxy)-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x 2 HC1

5 MS: $m/e = 575 (M^+)$.

Beispiel 22

2(4(3(4-Methylpiperazin-1-yl)-prop-1-yloxy)-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x 3 HCl

10 MS: $m/e = 393 (M^+)$.

Beispiel 23

2(3(2(N, N-Benzylmethylamino)-eth-1-yloxy)-4-nitrophenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid

15 ¹H-NMR (D₆-DMSO): $\delta = 1,0(6H), 2,5-2,8(4H), 2,9(2H), 4,3(2H), 7,3(1H), 7,8-8,2(6H) und 9,1(1H) ppm.$

Beispiel 24

25

2(4(3-Trifluoracetamidomethyl-pyrrol-1-yl)phenyl)-benzimidazol-20 4-carbonsäureamid

30 a) 2(4-Nitrophenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureethylester

1,5 g (8,3 mMol) 2,3-Diaminobenzoesäureethylester und 1,1 ml konzentrierte Essigsäure wurden in 50 ml Methanol gelöst. Anschließend wurden 1,6 g (10,8 mMol) 4-Nitrobenzaldehyd, 35 gelöst in 150 ml Methanol, innerhalb von 30 Minuten zugetropft. Danach wurden 2,2 g (10,8 mMol) Kupfer-II-acetat, gelöst in 100 ml warmen Wasser, zügig zugetropft und anschließend alles für 20 Minuten unter Rückfluß gekocht. Man kühlte die Reaktionslösung auf 50oC und gab 3 ml 32%iger 40 Salzsäure zu. Danach tropfte man noch vorsichtig eine Lösung aus 3,1 g Natriumsulfid-Hydrat in 50 ml Wasser zu und rührte alles noch für 15 Minuten. Die Reaktionslösung wurde auf Eiswasser gegossen und der entstandene Niederschlag abgesaugt. Das Filtrat wurde mit wäßriger Natriumhydrogenkarbonat-Lösung 45 alkalisch gestellt und mehrmals mit Essigester extrahiert.

Die Essigester-Phase wurde abgetrennt, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Man erhielt 2,2 g des Zwischenproduktes.

b) 2(4(4-Nitro-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäurehydrazid 5

Zu 2,1 g (6,7 mMol) der Zwischenverbindung 24a in 25 ml Ethanol wurden 1,7 ml (34 mMol) Hydrazinhydrat gegeben und alles für 4 Stunden unter Rückfluß gekocht. Anschließend wurde das organische Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand zwischen Wasser und Essigester verteilt. Die Essigester-Phase wurde abgetrennt, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Der so erhaltene Rückstand wurde noch mit Ether behandelt und erneut abgesaugt, wonach man 1,7 g der Zwischenverbindung erhielt.

15

10

2(4(4-Amino-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid

Zu 1,7 g (5,7 mMol) der Zwischenverbindung 24b in 120 ml Ethanol/Essigsäure (5/1) wurden ca. 1 g Palladium-Kohle 20 (10%ig) und alles mit Wasserstoff hydriert. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch filtriert und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde in 70 ml eines Gemisches aus Dimethylformamid und Wasser (7/3) gelöst. Anschließend wurden 2 g Raney-Nickel zugegeben und alles für 4 h auf 100°C erwärmt. 25 Danach wurde das Reaktionsgemisch filtriert und das Filtrat im Vakuum eingeengt. Der so erhaltene Rückstand wurde in Ether dispergiert und abgesaugt, wobei man 1,5 g des Produktes erhielt.

2(4(3-Trifluoracetamidomethyl-pyrrol-1-yl)phenyl)-benzimida-30 d) zol-4-carbonsäureamid

1,4 g (5,6 mMol) der Zwischenverbindung 24c und 1,8 g (6,9 mMol) 2,5-Dimethoxy-3-(trifluoracet-amidomethyl)tetra-35 hydrofuran wurden in 50 ml konzentrierter Essigsäure gegeben und für 10 Minuten unter Rückfluß erwärmt. Anschließend wurde alles im Vakuum eingeengt und der anfallende Rückstand chromatographisch an Kieselgel mit dem Fließmittel Essigester gereinigt. Man erhielt 1,9 g des Produktes.

40

¹H-NMR (D₆-DMSO). $\delta = 4.3(2H)$, 6.3(1H), 7.35(1H), 7.5(1H), 7,7-7,9(5H), 8,3(2H), 9,4(1H) und 9,9(1H) ppm.

2(4(3-Aminomethyl-pyrrol-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid

5

- 10 1,7 g (4 mMol) des Beispiels 24 wurden in 70 ml Tetrahydrofuran gelöst und mit einer Lösung aus 0,38 g (15,9 mMol) Lithiumhydroxid in 25 ml Wasser versetzt. Alles wurde für 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch mit verdünnter Salzsäure neutralisiert und das organische
- 15 Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der anfallende Niederschlag wurde abgesaugt und getrocknet. Man erhielt 0,87 g des Produktes.

¹H-NMR (D₆-DMSO). $\delta = 4,4(2H), 7,0(NH)$ und 7,8-8,4(11H) ppm.

20 Beispiel 26

2(4(3-Aminomethyl-pyrrol-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x 2 Methan-sulfonsäure

25

- 30 0,1 g des Produktes aus Beispiel 25 wurden in 2 ml Tetrahydrofuran gelöst und mit 20,5 μ L Methansulfonsäure, verdünnt mit 5 ml Wasser, versetzt. Man verdünnte anschließend noch mit Wasser und lyophilisierte danach die so erhaltene Lösung, wobei man 117 mg des Produktes erhielt.
- 35

¹H-NMR (D₆-DMSO). δ = 2,45(6H), 4,0(2H), 6,4(1H), 7,2-8,4(11H) und 9,1(NH) ppm.

15

Beispiel 27

2(4(1-Imidazolyl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid

a) 2(4(1-Imidazolyl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureethylester

10

1 g (5,5 mMol) 2,3-Diaminobenzoesäureethylester und 0,7 ml-konzentrierte Essigsäure wurden in 13 ml Methanol gelöst. Anschließend wurden 1,24 g (7,2 mMol) 4-Imidazol-1-ylbenz-aldehyd, gelöst in 25 ml Methanol, innerhalb von 30 Minuten zugetropft. Danach wurden 1,4 g (7,2 mMol) Kupfer-II-acetat, gelöst in 19 ml warmen Wasser, zügig zugetropft und anschließend alles für 20 Minuten unter Rückfluß gekocht. Man kühlte die Reaktionslösung auf 500c und gab 2,25 ml 32%iger Salzsäure zu. Danach tropfte man noch vorsichtig eine Lösung aus 2,13 g Natriumsulfid-Hydrat in 15 ml Wasser zu und rührte

- aus 2,13 g Natriumsulfid-Hydrat in 15 ml Wasser zu und rührte alles noch für 15 Minuten. Die Reaktionslösung wurde auf Eiswasser gegossen und der anfallende Niederschag abgesaugt. Das Filtrat wurde mit wäßriger Natriumhydrogenkarbonat-Lösung alkalisch gestellt und mehrmals mit Essigester extrahiert.
- Die Essigester-Phase wurde abgetrennt, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Man erhielt 1,7 g des Zwischenproduktes.
 - b) 2(4(1-Imidazolyl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäurehydrazid
- Zu 1,6 g (5,0 mMol) der Zwischenverbindung 27a in 30 ml Butanol wurden 5 ml Hydrazinhydrat gegeben und alles für 8 Stunden unter Rückfluß gekocht. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt und der Rückstand zwischen Wasser und Essigester verteilt. Die Essigester-Phase wurde abgetrennt, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Man erhielt 0,55 g der Zwischenverbindung.
 - c) 2(4(1-Imidazolyl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- Zu 0,53 g (1,7 mMol) der Zwischenverbindung 27b in 35 ml Dimethylformamid/Wasser (2/1) wurden ca. 1,5 g Raney-Nickel gegeben und alles für 8 Stunden auf 100°C erwärmt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch filtriert und das Filtrat mit viel Wasser verdünnt, wobei das Produkt ausfiel. Man erhielt 0,19 g des Produktes.
- 1 H-NMR (D₆-DMSO). δ = 7,2(1H), 7,4(1H), 7,7-8,0(6H) 8,4(3H) und 9,4(1H) ppm.

2(4(1-Imidazolyl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x2Methansulfonsäure

5

10 50 mg des Beispiels 4 wurden analog der Vorschrift 26a in das Bismethansulfonat überführt und lyophilisiert. Man erhielt 60 mg des Produktes.

¹H-NMR (D₆-DMSO). $\delta = 2.3(6H)$, 7.4(2H), 7.8-8.2(7H), 8.4(1H), 8,5(2H), 9,1(1H) und 9,8 (2H) ppm.

15

Beispiel 29

2(3(3-Trifluoracetamidomethyl-pyrrol-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid

20

25

a) 2(3-Nitrophenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureethylester

30

35

40

4,2 g (23 mMol) 2,3-Diaminobenzoesäureethylester und 3,1 ml konzentrierte Essigsäure wurden in 100 ml Methanol gelöst. Anschließend wurden 4,5 g (30 mMol) 4-Nitrobenzaldehyd, gelöst in 150 ml Methanol, innerhalb von 30Minuten zugetropft. Danach wurden 6 g (30 mMol) Kupfer-II-acetat, gelöst in 150 ml warmen Wasser, zügig zugetropft und anschließend alles für 20 Minuten unter Rückfluß gekocht. Man kühlte die Reaktionslösung auf 50oC und gab 8,3 ml konzentrierte Salzsäure zu. Danach tropfte man noch vorsichtig eine Lösung aus 8,6 g Natriumsulfid-Hydrat in 100 ml Wasser zu und rührte alles noch für 15 Minuten. Die Reaktionslösung wurde auf Eiswasser gegossen und der anfallende Niederschlag abgesaugt. Das Filtrat wurde mit wäßriger Natriumhydrogenkarbonat-Lösung alkalisch gestellt und mehrmals mit Essigester extrahiert. Die Essigester-Phase wurde abgetrennt, getrocknet und im

45

Vakuum eingeengt. Man erhielt 6.1g des Zwischenproduktes.

WO 00/26192

5

b) 2(3-Nitro-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäurehydrazid

46

Zu 6 g (19,3 mMol) der Zwischenverbindung 29a in 70 ml Ethanol wurden 4,8 g (96 mMol) Hydrazinhydrat gegeben und alles für 3 Stunden unter Rückfluß gekocht. Anschließend wurde der Reaktionsansatz auf Wasser gegossen und der entstandene Niederschlag abgesaugt. Man erhielt 4,8 g der Zwischenverbindung.

10 c) 2(3-Amino-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid

Zu 4,7 g (15,8 mMol) der Zwischenverbindung 29b in 400 ml
Ethanol wurden 0,5 g Palladium-Kohle (10%ig) gegeben und
alles mit Wasserstoff hydriert. Anschließend wurde der Reaktionsansatz filtriert und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand
wurde in 100 ml Dimethylformamid aufgenommen und danach mit
70 ml Wasser verdünnt. Anschließend wurden 10 g Raney-Nickel
zugegeben und alles für 2 h auf 90°C erwärmt. Danach wurde
filtriert und das Filtrat im Vakuum eingeengt. Der erhaltene
Rückstand wurde aus Essigester/Ether kristallisiert, wonach
3,1 g des Produktes erhalten wurden.

d) 2(3(3-Triflouracetamidomethyl-pyrrol-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid

25

30

2,2 g (8,7 mMol) der Zwischenverbindung 29c und 2,8 g (10,9 mMol) 2,5-Dimethoxy-3-(trifluoracet-amidomethyl)tetrahydrofuran wurden in 75 ml konzentrierter Essigsäure gegeben und für 15 Minuten unter Rückfluß erwärmt. Anschließend wurde alles im Vakuum eingeengt und der anfallende Rückstand chromatographisch an Kieselgel mit dem Fließmittel Essigester/Methanol (10/1) gereinigt. Man erhielt 2,5 g des Produktes.

 $MS: m/e = 427 (M^+).$

35

2(3(3-Aminomethyl-pyrrol-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäure-amid

5

10

2,3 g (5,4 mMol) des Beispiels 29 wurden in 100 ml Tetrahydrofuran gelöst und mit 0,26 g (10,8 mMoll) Lithiumhydroxid, gelöst in 50 ml Wasser, versetzt. Alles wurde für 2 Stunden bei Raum-15 temperatur gerührt. Anschließend wurde der Ansatz durch Zugabe von verdünnter Salzsäure neutralisiert und das organische Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der langsam auskristallisierende Niederschlag wurde abgesaugt. Man erhielt 0,61 g des Produktes.

20 $^{1}H-NMR$ (CF₃COOD). $\delta = 4,4(2H)$, 7,0(NH) und 7,8-8,4(11H) ppm.

Beispiel 31

2(4(4-Methylpiperazin-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid

25

30

35

a) 4(4-Methylpiperazin-1-yl)benzaldehyd

20 g (161 mMol) 4-Fluorbenzaldehyd, 48,4 g (483 mMol) 1-Methylpiperazin und 22,3 g (161 mMol) Kaliumkarbonat wurden in 50 ml Dimethylformamid gegeben und für 36 Stunden auf 130°C erwärmt. Anschließend wurde der Ansatz im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde zwischen Essigester und 2 M Salzsäure verteilt. Die wäßrige Phase wurde abgetrennt und mit wäßriger Natriumhydrogenkarbonat-Lösung alkalisiert. Diese wäßrige Phase wurde mit Essigester extrahiert, die organische Phase abgetrennt, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Man erhielt 48,7 g des Zwischenproduktes.

- b) 2(4(4-Methylpiperazin-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-säureethylester
- 1,5 g (8,3 mMol) 2,3-Diaminobenzoesäureethylester und 2,2 g (10,8 mMol) der Zwischenverbindung 8a wurden analog der Vorschrift 6a umgesetzt, wobei man nach einer chromatographischen Reinigung an Kieselgel 2,8 g des Produktes erhielt.
- 10 c) 2(4(4-Methylpiperazin-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-säurehydrazid

1,35 g (3,7 mMol) der Zwischenverbindung 21b wurden analog der Vorschrift 6b mit Hydrazin umgesetzt, wobei 1,1 g des Produktes anfielen.

- d) 2(4(4-Methylpiperazin-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-säureamid
- Die Zwischenverbindung wurde analog der Vorschrift 29c mit Raney-Nickel behandelt, wonach das Produkt erhalten wurde.

¹H-NMR (D₆-DMSO). δ = 2,25(3H), 2,6(4H), 3,2(4H), 7,0-8,1(9H) und 9,5(1H) ppm.

25

15

Beispiel 32

2(3(2-Trifluoracetamidomethyl-pyrrol-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid

30

35

Analog Beispiel 29 wurde aus 2,3-Diaminobenzoesäureethylester, 3-Nitrobenzaldehyd und 2,5-Dimethoxy-2-(trifluoracetamidomethyl)-tetrahydrofuran die obige Verbindung hergestellt.

40 ¹H-NMR (D₆-DMSO). $\delta = 4.5(2H)$, 6.3(2H), 7.3-8.0(6H), 9.25(1H) und 9.8(1H) ppm.

2(3(3-Formyl-pyrrol-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid

5

10

Analog Beispiel 29 wurde aus 2,3-Diaminobenzoesäureethylester, 3-Nitrobenzaldehyd und 2,5-Dimethoxy-tetrahydrofuranyl-3-carbaldehyd die obige Verbindung hergestellt.

¹H-NMR (D₆-DMSO). δ = 6,8(2H), 7,3-8,0(6H), 8,3(1H), 8,4(1H), **15** 8,6(1H), 9,2(1H) und 9,8(1H) ppm.

Beispiel 34

2(3(3(N,N-Benzyl-methylaminomethyl)-pyrrol-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x 2 HCl

20

25

2,0 g (6,0 mMol) der Verbindung aus Beispiel 33, 0,74 g
 (6,0 mMol) N-Methylbenzylamin, und 0,4 ml (6,0 mMol) Eisessig
30 wurden in 100 ml Ethanol gelöst. Bei Raumtemperatur wurden danach portionsweise 0,38 g (6,0 mMol) Natriumcyanoborhydrid zugefügt und alles bei Raumtemperatur für 16 h gerührt. Anschließend wurde der Ansatz mit wäßriger Natriumhydrogenkarbonat-Lösung verdünnt und mit Essigester extrahiert. Die organische Phase wurde abge35 trennt, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel (Fließmittel: Essigester/Methanol = 10/1) gereinigt. Das so erhaltene Produkt wurde in Aceton gelöst und mit isopropanolischer Chlorwasserstoff-Lösung versetzt, wobei das Produkt ausfiel und abgesaugt wurde. Man erhielt 0,98 g
40 des Produktes.

¹H-NMR (D₆-DMSO). δ = 2,6(3H), 4,1-4,5(4H), 6,6(1H), 7,3-8,0(13H), 8,2(1H), 8,6(1H), 9,1(1H) und 10,8(1H) ppm.

2(3(2-Aminomethyl-pyrrol-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-säureamid

5

10

1,0 g (2,3 mMol) der Verbindung aus Beispiel 32 wurden in 100 mł Wasser gelöst und mit 0,56 g (23,4 mMol) Lithiumhydroxid, gelöst in 20 ml Wasser, versetzt. Alles wurde für 90 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das organische Lösungsmittel im Vakuum entfernt und die resultierende wäßrige Phase mit verdünnter Salzsäure vorsichtig neutralisiert. Der auftetende Niederschlag wurde abgesaugt. Man erhielt 0,55 g des Produktes.

¹H-NMR (D₆-DMSO). $\delta = 3.8(2H)$, 6.2(2H), 7.0(1H), 7.35(1H), **20** 7.6-8.1(5H), 8.3(1H), 9.35(1H) und 9.5(1H) ppm.

Beispiel 36

2(4(4-Methylpiperazin-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x 3 HCl

25

30

0,25 g des Produktes aus Beispiel 31 wurden in 25 ml Essigester/ Tetrahydrofuran (4/1) gelöst und tropfenweise mit etherischer Chlorwasserstoffsäure versetzt. Der entstandene Niederschlag 35 wurde mit Aceton behandelt und abgesaugt. Man erhielt 0,25 g des Produktes.

¹H-NMR (D₆-DMSO). δ = 2,75(3H), 3,1-3,4(4H), 4,0-4,4(4H), 7,25(2H), 7,5(1H), 7,9-8,1(4H), 8,3(2H), 9,0(breit) und 40 11,5(breit) ppm.

Beispiel 37

2(4(4-tert-Butyloxypiperazin-1-y1)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-säureamid

45 ¹H-NMR (D₆-DMSO). δ = 1,4(9H), 3,3(4H), 3,5(4H), 7,2(1H), 7,3(1H), 7,7(1H), 7,75(1H), 7,8(1H), 8,2(2H), 9,4(1H) und 12,5 ppm.

Beispiel 38 2(4(Piperazin-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x 2 HCl ¹H-NMR (D₆-DMSO). $\delta = 3,3(4H)$, ca. 3,7(4H), 7,3(2H), 7,6(1H), 5 7,9-8,0(3H), 8,3(2H), 8,7(1H) und 9,5(breit) ppm. Beispiel 39 2(3(2(Aminomethyl)-pyrrol-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid x 2 HCl 10 ¹H-NMR (D₂O). $\delta = 4.25(2H)$, 6.4(1H), 6.6(1H), 7.1(1H), 7.4(1H), 7,6(1H), 7,7-7,8(3H), 7,9(1H) und 8,0(1H) ppm. Beispiel 40 2(4(3-Formylpyrrol-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid 15 ¹H-NMR (D₆-DMSO). $\delta = 6.7(1H)$, 7.3(1H), 7.7-8.0(7H), 8.4(2H), 9,4(1H), 9,8(1H) und 13,5(breit) ppm. Beispiel 41 2(4(3-(N,N-Benzylmethylaminomethyl)-pyrrol-1-yl)phenyl)-benz-20 imidazol-4-carbonsäureamid x 2 HCl $MS: m/e = 435 (M^+).$ Beispiel 42 2(4(3-(N,N-Diethylaminomethyl)-pyrrol-1-yl)phenyl)-benzimidazol-25 4-carbonsäureamid x 2 HCl ¹H-NMR (D₆-DMSO). $\delta = 1.3(6H)$, 3.1(4H), 4.2(2H), 6.6(1H), 7.5(1H), 7,75(1H), 7,8-8,0(6H), 8,5(2H), 9,1(1H) und 10,4(1H) ppm. Beispiel 43 30 2(4(3-(4-Methylpiperazin-1-ylmethyl)-pyrrol-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid ¹H-NMR (D₆-DMSO). $\delta = 2,1(3H), 2,2-2,5(8H), 3,35(2H), 6,2(1H),$ 7,3-8,0(7H), 8,3(2H) und 9,4(breit) ppm. 35 Beispiel 44 2(4(3-(4-Benzylpiperazin-1-ylmethyl)-pyrrol-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid ¹H-NMR (D₆-DMSO). $\delta = 2,2-2,6(8H)$, 3,4(2H), 3,5(2H), 6,2(1H), 7,2-8,0(13H), 8,3(2H), 9,4(1H) und 13,4(breit) ppm. 40 Beispiel 45 2(4(3-(Piperidin-1-ylmethyl)-pyrrol-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid ¹H-NMR (D₆-DMSO). $\delta = 1,3-1,6(6H), 2,3(4H), 3,3(2H), 6,2(1H),$ **45** 7,3-8,0(8H), 8,3(2H) und 9,4(breit) ppm.

PCT/EP99/08169 WO 00/26192 52 Beispiel 46 2(4(4-Benzylpiperazin-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid $3 \times HC1$ ¹H-NMR (D₆-DMSO). $\delta = 3,2(4H), 4,2(4H), 4,5(2H), 7.,2(2H),$ 5 7,4-8,0(9H), 8,2(2H), 9,0(1H) und 11,8(breit) ppm. Beispiel 47 2(4(4-Cyclohexylpiperazin-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid 10 ¹H-NMR (D₆-DMSO). $\delta = 1,1-1,9(10H), 2,7(4H), 3,2(4H), 4,1(1H),$ 7,1(2H), 7,25(1H), 7,7(2H), 7,8(1H), 8,0(2H), 9,4(1H) und ca. 13 (breit) ppm. Beispiel 48 15 2(4(4-Ethylpiperazin-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid $^{1}H-NMR$ (D₆-DMSO). $\delta = 1.0(3H)$, 2.4(2H), 2.5(4H), 3.2(4H), 7,0-7,3(3H), 7,6-7,9(2H), 8,0(2H), 9,4(1H) und ca. 13(breit) ppm. Beispiel 49 20 2(4(4-n-Butylpiperazin-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäure-¹H-NMR (D₆-DMSO). $\delta = 0.9(3H)$, 1,2-1,6(4H), 2,3(2H), 3,2-3,5(8H), 7,1(2H), 7,3(1H), 7,6-7,9(3H), 8,1(2H), 9,5(1H) und 13(breit)ppm. 25 Beispiel 50 2(4(4-Diphenylmethylpiperazin-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid $^{1}\text{H-NMR}$ (D₆-DMSO). δ = 2,5(4H), 3,2(4H), 4,3(1H), 7,0-7,9(16H), 8,1(2H), 9,4(1H) und ca. 13(breit) ppm. 30 Beispiel 51 2(2-Methyl-4-piperazin-1-yl-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid $3 \times HC1$ $MS: m/e = 335(M^+).$ 35 Beispiel 52 2(3-Piperazin-1-yl-phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid 3 x HCl ¹H-NMR (D₆-DMSO). $\delta = 3.2(4H)$, 3.6(2H), 7.2-7.6(3H), 7.7-8.0(4H), **40** 8,9(breit) und 9,5(breit) ppm. Beispiel 53

2(4(4-Isopropylpiperazin-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäure-

45 ¹H-NMR (D₆-DMSO). $\delta = 1.0(6H)$, 2.7(4H), 2.8(1H), 3.3(4H), 7.1(2H), 7,2(1H), 7,5-7,9(3H), 8,05(2H), 9,4(1H) und 13(breit) ppm.

```
Beispiel 54
   2(4(4-tert.Butyloxycarbonylhomopiperazin-1-yl)phenyl)-benz-
   imidazol-4-carbonsäureamid
   ^{1}H-NMR (D<sub>6</sub>-DMSO). \delta = 1,1-1,3(9H), 1,9(2H), 3,1-3,9(8H), 6,9(2H),
 5 7,2(1H), 7,7-7,9(3H), 8,0(2H), 9,5(1H) und ca. 13(breit) ppm.
   Beispiel 55
   2(4(Homopiperazin-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid
   <sup>1</sup>H-NMR (D<sub>6</sub>-DMSO). \delta = 2,1(2H), 3,1(2H), 3,2(2H), 3,7(2H), 3,9(2H),
10 7,0(2H), 7,5(1H), 7,8-8,0(3H), 8,2(2H), 8,7(breit) und 9,3(breit)
   ppm.
   Beispiel 56
   2(4(4-(Piperidin-1-yl)piperidin-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-
15 carbonsäureamid
   <sup>1</sup>H-NMR (D<sub>6</sub>-DMSO). \delta = 1.7-1.9(8H), 2,2(2H), 2,8-2,9(3H), 3,3(4H),
   4,1(2H), 7,1(2H), 7,3(1H), 7,7(1H), 7,75(1H), 7,8(1H), 8,1(2H),
   9,4(1H) und 13,2(breit) ppm.
20 Beispiel 57
   2(4(3-Amino-pyrroldin-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid
   x 2 HCl
   MS: m/e = 321 (M^+).
25 Beispiel 58
   2(4(4-Benzyl-homopiperazin-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-
   säureamid
   Beispiel 59
30 2(4(4-Methyl-homopiperazin-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-
   säureamid
   Beispiel 60
   2(4(4-Ethyl-homopiperazin-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-
35 säureamid
   Beispiel 61
   2(4(4-Isopropyl-homopiperazin-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-
   säureamid
40
   Beispiel 62
   2(4(4-Butyl-homopiperazin-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-
```

45

säureamid

5

Beispiel 63
Synthese von 2-Phenylbenzimidazol-4-carboxamid

a) 2,3-Diamino-benzoesäureamid x 2 Hydrochlorid

Eine Lösung von 200 g (1,11 mol) 2,3-Diaminobenzoesäureethylester in 1500 ml 1-Butanol wurde bei Raumtemperatur vorsichtig mit 400 ml Hydrazinhydrat versetzt. Die Mischung wurde 15 Stunden auf 100°C erwärmt. Anschließend wurde der 10 Ansatz auf ein Drittel des Volumens eingeengt. Diese Lösung wurde langsam zu einer Suspension von ca. 200 g Raney-Nickel in 500 ml Wasser und 1000 ml Dimethylformamid getropft. Die Mischung wurde 2 Stunden auf 100°C erwärmt. Nach Abkühlen auf 10°C wurde der Katalysator abgetrennt und das Filtrat 15 im Vakuum eingeengt. Das so erhaltene Öl wurde in 500 ml Methanol gelöst und mit Diethylether versetzt. Der Niederschlag wurde abgetrennt und das Filtrat erneut eingeengt. Eine Lösung des erhaltenen Öls in Methanol wurde unter Rückfluß mit Chlorwasserstoff/iso-Propanol versetzt. Der beim Abkühlen ausfallende Niederschlag wurde abgesaugt, mit 20 Diethylether aufgeschlämmt und erneut abgesaugt. Man erhielt 172,2 g des Produktes.

b) 2-Phenylbenzimidazol-4-carboxamid

25 Zu einer Lösung von 0,84 g (15 mmol) Kaliumhydroxidpulver in 100 ml Ethanol wurden bei Raumtemperatur 1,68 g (7,5 mmol) des Produktes aus 1b zugegeben. Nach 5 Minuten wurden 1,35 g (22,5 mmol) Eisessig zugegeben, und innerhalb von 30 Minuten 30 wurde eine Lösung von 1 g (9,38 mmol) Benzaldehyd in 20 ml Ethanol zugetropft. Anschließend wurde eine Lösung von 2,59 g (12,97 mmol) Kupfer-II-acetat in 20 ml dest. Wasser zügig zugetropft. Die Mischung wurde 2 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Der Ansatz wurde auf Wasser gegeben, mit Konzentrier-35 ter Ammoniaklösung alkalisch gestellt und mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen und unter Zusatz von Aktivkohle über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeengt. Der harzige Rückstand wurde mit Diethylether verrieben, das abgetrennte Kristallisat wurde mit Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet. 40 Es wurden 1,5 g des Produktes erhalten.

Patentansprüche

1. Verbindungen der Formel I oder II

worin

10

15

- R^1 Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, wobei ein C-Atom des Alkyl-Restes noch OR^{11} oder eine Gruppe R^5 tragen kann, wobei R^{11} Wasserstoff oder C_1 - C_4 -Alkyl bedeutet, und
- R² Wasserstoff, Chlor, Brom, Jod, Fluor, CF₃, Nitro, NHCOR²¹, NR²²R²³ OH, O-C₁-C₄-Alkyl, O-C₁-C₄-Alkyl-Phenyl, NH₂, Phenyl, wobei die Phenyl-Ringe noch mit maximal zwei Resten R²⁴ substituiert sein können, und R²¹ und R²² unabhängig voneinander Wasserstoff oder C₁-C₄-Alkyl bedeuten und R²³ Wasserstoff, C₁-C₄-Alkyl oder Phenyl bedeuten, und R²⁴ OH, C₁-C₆-Alkyl, O-C₁-C₄-Alkyl, Chlor, Brom, Jod, Fluor, CF₃, Nitro, NH₂, und
 - x 0, 1 und 2 sein kann und
- R³ $-D-(F^1)_p-(E)_q-(F^2)_r$ -G bedeutet, wobei p, q und r nicht gleichzeitig 0 sein können, oder $-E-(D)_u-(F^2)_s-(G)_v$, wobei der Rest E noch mit einem oder zwei Resten A substituiert sein kann, oder R³ gleich B ist und
- Wasserstoff, Chlor, Fluor, Brom, Jod, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, OH, Nitro, CF_3 , CN, $NR^{41}R^{42}$, NH-CO- R^{43} , O- C_1 - C_4 -Alkyl, wobei R^{41} und R^{42} unabhängig voneinander Wasserstoff oder C_1 - C_4 -Alkyl bedeuten und
- R^{43} Wasserstoff, $C_1-C_4-Alkyl$, $C_1-C_4-Alkyl-Phenyl$ oder Phenyl bedeuten, und

5

20

45

- D S und O
- E Phenyl, Imidazol, Pyrrol, Thiophen, Pyridin, Pyrimidin, Piperazin, Pyrazin, Furan, Thiazol, Isoxazol, Pyrrolidin, Piperidin, Trihydroazepin und
 - F¹ eine Kette aus 1 bis 8 Kohlenstoffatomen, wobei ein Kohlenstoffatom der Kette noch eine OH oder $O-C_1-C_4-Alkyl-Gruppe$ tragen kann und
- 10 $F^2 \quad \text{eine Kette aus 1 bis 8 Kohlenstoffatomen, wobei} \\ \quad \text{ein Kohlenstoffatom der Kette noch eine OH oder} \\ \quad \text{O-C}_1\text{-C}_4\text{-Alkyl-Gruppe tragen kann und}$
- 15 p 0 und 1 bedeuten kann und
 - q 0, und 1 sein kann, und
 - r 0 und 1 sein kann und
- s 0 und 1 sein kann und
 - u 0 und 1 sein kann und
- v 0 und 1 sein kann
 - G NR⁵¹R⁵² und

sein kann und

- 40 R⁵¹ Wasserstoff und verzweigtes und unverzweigtes $C_1-C_6-Alkyl$, $(CH_2)_t-K$ bedeutet und
 - R^{52} Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, Phenyl,

0 ,
$$-SO_2R^{53}$$
, $-(C=N)-R^{53}$, $-CO-NHR^{53}$, $-(C=N)-NHR^{53}$,

5 worin

10

15

20

25

30

45

R⁵³ verzweigtes oder unverzweigtes O-C₁-C₆-Alkyl, Phenyl, verzweigtes oder unverzweigtes C1-C4-Alkyl-Phenyl, wobei bei ${\bf R}^{52}$ und ${\bf R}^{53}$ unabhängig voneinander ein Wasserstoff des C1-C6-Alkylrests durch einen der folgenden Reste substituiert sein kann: OH, O-C1-C4-Alkyl, Cyclohexyl, Cyclopentyl, Tetrahydronaphthyl, Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cycloheptyl, Naphthyl und Phenyl, wobei die Carbocyclen der Reste \mathbb{R}^{52} und \mathbb{R}^{53} unabhängig voneinander noch einen oder zwei der folgenden Reste tragen können: verzweigtes oder unverzweigtes C1-C6-Alkyl, verzweigtes oder unverzweigtes O-C1-C4-Alkyl, OH, F, Cl, Br, J, CF₃, NO₂, NH₂, CN, COOH, COOC₁-C₄-Alkyl, C₁-C₄-Alkylamino, CCl₃, C₁-C₄-Dialkylamino, SO₂-C₁-C₄-Alkyl, SO₂Phenyl, CONH₂, CONH-C₁-C₄-Alkyl, CONHPhenyl, CONH-C1-C4-Alkyl-Phenyl, NHSO2-C1-C4-Alkyl, NHSO2Phenyl, $S-C_1-C_4-Alkyl$,

$$\begin{array}{c} O \\ \hline \\ C_1-C_4-Alkyl, \\ \hline \\ O \end{array} \begin{array}{c} O \\ \hline \\ C_0-C_4-Alkyl-Phenyl, \\ \end{array}$$

CHO, $CH_2-O-C_1-C_4-Alkyl$, $-CH_2O-C_1-C_4-Alkyl-Phenyl$, $-CH_2OH$, $-SO-C_1-C_4-Alkyl$, $-SO-C_1-C_4-Alkyl-Phenyl$, $-SO_2NH_2$, $-SO_2NH-C_1-C_4-Alkyl$

und zwei Reste eine Brücke $-0-(CH_2)_{1,2}-0-$ bilden, bedeuten kann,

В

sein kann und

- A Wasserstoff, Chlor, Brom, Jod, Fluor, CF3, Nitro, OH, $^-$ O-C1-C4-Alkyl, O-C1-C4-Alkyl-Phenyl, NH2, verzweigtes und unverzweigtes C_1 -C6-Alkyl, CN, NH-CO-R³³, wobei R³³ Wasserstoff, C1-C4-Alkyl oder Phenyl bedeutet, sein kann und
- R^{31} Wasserstoff, C_1 - C_6 -Alkyl, $(CH_2)_t$ -K und
- - R33 Wasserstoff und C1-C4-Alkyl und
 - t 0,1,2,3,4 und

15

5

- Phenyl, der noch maximal zwei Reste R tragen kann, NR^{k1}R^{k2} (mit R^{k1} bzw. R^{k2} mit den gleiche Bedeutungen wie R⁴¹ bzw. R⁴²), NH=C₁=C₄=Alkyl=Phenyl, Pyrrolidin, Piperidin, 1,2,5,6-Tetrahydropyridin, Morpholin, Trihydroazepin, Piperazin, das noch mit einem Alkyl-Rest C₁-C₆-Alkyl substituiert sein kann, und Homopiperazin, das noch mit einem Alkyl-Rest C₁-C₆-Alkyl substituiert sein kann, und
- R^5 Wasserstoff, C_1 - C_6 -Alkyl, NR^7R^9 und

25

20

30

35

45

bedeuten kann und

- R^7 Wasserstoff, C_1 - C_6 -Alkyl, C_1 - C_4 -Alkyl-Phenyl, Phenyl, wobei die Ringe noch mit bis zu zwei Resten R^{71} substituiert sein können, und
 - R^{71} OH, C_1 - C_6 -Alkyl, O- C_1 - C_4 -Alkyl, Chlor, Brom, Jod, Fluor, CF₃, Nitro, NH₂, und

- \mbox{R}^{8} Wasserstoff, $\mbox{C}_{1}\mbox{-}\mbox{C}_{6}\mbox{-}\mbox{Alkyl},$ Phenyl, $\mbox{C}_{1}\mbox{-}\mbox{C}_{4}\mbox{-}\mbox{Alkyl}\mbox{-}$ Phenyl, wobei der Ring noch mit bis zu zwei Resten \mbox{R}^{81} substituiert sein kann, und
- 5 R^{81} OH, C_1 - C_6 -Alkyl, O- C_1 - C_4 -Alkyl, Chlor, Brom, Jod, Fluor, CF_3 , Nitro, NH_2 , und
- R⁹ Wasserstoff, COCH₃, CO-O-C₁-C₄-Alkyl, COCF₃, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, wobei ein oder zwei Wasserstoffe des C₁-C₆-Alkylrests durch jeweils einen der folgenden Reste substituiert sein kann: OH, O-C₁-C₄-Alkyl und Phenyl und der Phenyl-Ring noch einen oder zwei der folgenden Reste tragen kann: Jod, Chlor, Brom, Fluor, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, Nitro, Amino, C₁-C₄-Alkylamino, C₁-C₄-Dialkylamino, OH, O-C₁-C₄-Alkyl, CN, CF₃, SO₂-C₁-C₄-Alkyl, bedeuten kann, und

sowie ihre tautomeren Formen, möglichen enantiomeren und diastereomeren Formen, und deren Prodrugs und pharmakologisch verträglichen Salze.

- Verbindungen der allgemeinen Formel I oder II nach Anspruch 1, worin
- 25 R^1 Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, wobei ein C-Atom des Alkyl-Restes noch OR^{11} oder eine Gruppe R^5 tragen kann, wobei
 - R^{11} Wasserstoff oder C_1 - C_4 -Alkyl bedeutet, und

30

- R^2 Wasserstoff, Chlor, Fluor, Brom, Iod, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, Nitro, CF_3 , CN, $NR^{21}R^{22}$, NH-CO- R^{23} , OR^{21} , wobei
- 35 R^{21} und R^{22} unabhängig voneinander Wasserstoff oder $C_1\text{-}C_4\text{--Alkyl}$ bedeuten und
 - R²³ Wasserstoff, C₁-C₄-Alkyl oder Phenyl bedeuten, und
- **40** $R^3 O (CH_2)_O (CHR^{31})_m (CH_2)_n R^5$, wobei
 - R^{31} Wasserstoff, $C_1-C_4-Alkyl$, OH und $O-C_1-C_4-Alkyl$,
 - m, o unabhängig voneinander 0, 1 oder 2 bedeutet, und

45

n 1, 2, 3 oder 4 bedeutet, und

PCT/EP99/08169

 R^4 Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes $C_1-C_6-Alkyl$, Chlor, Brom Fluor, Nitro, Cyano, $NR^{41}R^{42}$, $NH-CO-R^{43}$, OR^{41} , wobei

- 5 R^{41} und R^{42} unabhängig voneinander Wasserstoff oder $C_1\text{-}C_4\text{-}\text{Alkyl}$ bedeuten und
 - R^{43} C_1 - C_4 -Alkyl oder Phenyl bedeuten, und
- 10 R⁵ NR⁵¹R⁵² oder einen der folgenden Reste

15

$$\bigcap_{N \searrow_{RS2}} \qquad \bigwedge_{N \searrow_{S}} \qquad \bigcap_{N \searrow_{S}} \bigcap_{RS2} \bigcap_{N \searrow_{S}} \bigcap_{RS2} \bigcap_{N \searrow_{S}} \bigcap_{N \searrow_{S}} \bigcap_{RS2} \bigcap_{N \searrow_{S}} \bigcap_{N \searrow_{S}$$

bedeutet, wobei

20

- R^{51} Wasserstoff und verzweigtes und unverzweigtes $C_1\text{--}C_6\text{--}\text{Alkyl}$ bedeutet und
- R^{52} Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, Phenyl,

$$\begin{array}{c}
0\\
\\
R^{53}
\end{array}, -SO_2R^{53}, \text{ worin}$$

 ${\ensuremath{\mathsf{R}}}^{53}$ verzweigtes oder unverzweigtes O-C1-C6-Alkyl, Phenyl, 30 verzweigtes oder unverzweigtes C₁-C₄-Alkyl-Phenyl, wobei bei ${\bf R}^{52}$ und ${\bf R}^{53}$ unabhängig voneinander ein Wasserstoff des C_1 - C_6 -Alkylrests durch einen der folgenden Reste substituiert sein kann: OH, O-C1-C4-Alkyl, Cyclohexyl, Cyclopentyl, Tetrahydronaphthyl, Cyclopropyl, 35 Cyclobutyl, Cycloheptyl, Naphthyl und Phenyl, wobei die Carbocyclen der Reste \mathbb{R}^{52} und \mathbb{R}^{53} unabhängig voneinander noch einen oder zwei der folgenden Reste tragen können: verzweigtes oder unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, ver-40 zweigtes oder unverzweigtes O-C₁-C₄-Alkyl, OH, F, Cl, Br, J, CF_3 , NO_2 , NH_2 , CN, COOH, $COOC_1-C_4-Alkyl$, $C_1-C_4-Alkyl-Alkyl$ amino, CCl₃, C₁-C₄-Dialkylamino, SO_2 -C₁-C₄-Alkyl, SO₂Phenyl, CONH₂, CONH-C₁-C₄-Alkyl, CONHPhenyl, $CONH-C_1-C_4-Alkyl-Phenyl$, $NHSO_2-C_1-C_4-Alkyl$, $NHSO_2Phenyl$, 45 $S-C_1-C_4-Alkyl$,

$$\begin{array}{c} O \\ \\ \bigcirc \\ C_1 - C_4 - \text{Alkyl}, \\ \bigcirc \\ O \end{array} \right) \begin{array}{c} O \\ \\ C_0 - C_4 - \text{Alkyl-Phenyl}, \\ \end{array}$$

5 CHO, $CH_2-O-C_1-C_4-Alkyl$, $-CH_2O-C_1-C_4-Alkyl-Phenyl$, $-CH_2OH$, $-SO-C_1-C_4-Alkyl$, $-SO-C_1-C_4-Alkyl-Phenyl$, $-SO_2NH_2$, $-SO_2NH-C_1-C_4-Alkyl$

und zwei Reste eine Brücke $-O-(CH_2)_{1,2}-O-$ bilden, bedeuten kann,

10

sowie ihre tautomeren Formen, möglichen enantiomeren und diastereomeren Formen, deren Prodrugs, sowie mögliche physiologisch verträgliche Salze.

- 15 3. Verbindungen der allgemeinen Formel I oder II nach Anspruch
 1,
 worin
- R¹ Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, 20 wobei ein C-Atom des Alkyl-Restes noch OR^{11} oder eine Gruppe R^5 tragen kann, wobei
 - R^{11} Wasserstoff oder C_1 - C_4 -Alkyl bedeutet, und
- 25 R^2 Wasserstoff, Chlor, Fluor, Brom, Jod, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, Nitro, CF_3 , CN, $NR^{21}R^{22}$, NH-CO- R^{23} , OR^{21} , wobei
- R^{21} und R^{22} unabhängig voneinander Wasserstoff oder $C_1\text{-}C_4\text{-}Alkyl$ bedeuten und
 - R^{23} Wasserstoff, C_1 - C_4 -Alkyl oder Phenyl bedeuten, und

 \mathbb{R}^3

35

40

45

$$-N$$
 N
 $-N$
 $N = R^{52}$
 R^{31}

und

 $\rm R^{31}$ Wasserstoff, CHO und -(CH₂)_o-(CHR³²)_m-(CH₂)_n-R⁵, wobei $\rm R^{32}$ Wasserstoff, C₁-C₄-Alkyl, OH und O-C₁-C₄-Alkyl, m,o unabhängig voneinander 0, 1 oder 2 bedeutet und n 1, 2, 3 oder 4 bedeutet, und

WO 00/26192 PCT/EP99/08169

 R^4 Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl, Chlor, Brom Fluor, Nitro, Cyano, $NR^{41}R^{42}$, NH-CO- R^{43} , OR^{41} , wobei

5 R^{41} und R^{42} unabhängig voneinander Wasserstoff oder $C_1-C_4-Alkyl$ bedeuten und R^{43} $C_1-C_4-Alkyl$ oder Phenyl bedeuten, und

R⁵ NR⁵¹R⁵² oder einen der folgenden Reste

10

wobei

20

45

15

 R^{51} Wasserstoff und verzweigtes und unverzweigtes $C_1-C_6-Alkyl$ bedeutet und

Wasserstoff, COCH₃, CO-O-C₁-C₄-Alkyl, COCF₃, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, wobei ein Wasserstoff des C₁-C₆-Alkylrests durch einen der folgenden Reste substituiert sein kann: OH, O-C₁-C₄-Alkyl und Phenyl und der Phenyl-Ring noch einen oder zwei der folgenden Reste tragen kann: Chlor, Brom, Fluor, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₄-Alkyl, Nitro, Amino, C₁-C₄-Alkylamino, C₁-C₄-Alkyl, CN, SO₂-C₁-C₄-Alkyl, bedeuten kann,

- sowie ihre tautomeren Formen, möglichen enantiomeren und diastereomeren Formen, deren Prodrugs, sowie mögliche physiologisch verträgliche Salze.
- 4. Verbindungen nach einem der Ansprüceh 1 bis 3, wobei R^2 in 3-Position und R^3 in 4-Position oder R^2 in 4-Position und R^3 in 3-Position zum Benzimidazolring steht.
 - 5. Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei \mathbb{R}^1 und \mathbb{R}^4 Wasserstoff bedeuten.

Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei

63

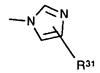
Wasserstoff, verzweigtes oder unverzweigtes C1-C6-Alkyl, Nitro, CN, NH2, O-C1-C4-Alkyl bedeutet.

5

7. Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 oder 3 bis 6, wobei

(i) für R³ gleich

10



15 R^{31} Wasserstoff oder $-(CH_2)_p-R^5$ bedeutet, wobei

1 oder 2 bedeutet und

R⁵² Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, wobei ein Wasserstoff des C1-C6-Alkylrests durch einen der folgenden Reste substituiert sein kann: OH, O-C1-C4-Alkyl und Phenyl und der Phenyl-Ring noch einen

20 oder zwei der folgenden Reste tragen kann: Chlor, Brom, Fluor, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₄-Alkyl, Nitro, Amino, C₁-C₄-Alkylamino, C₁-C₄-Dialkylamino, OH, $O-C_1-C_4-Alkyl$, CN, $SO_2-C_1-C_4-Alkyl$, bedeuten kann.

25

(ii) für R3 gleich



30

 R^{31} Wasserstoff oder $-(CH_2)_p-R^5$ bedeutet, wobei

1 oder 2 bedeutet und

R⁵² Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C₁-C₆-Alkyl, 35 wobei ein Wasserstoff des C1-C6-Alkylrests durch einen der folgenden Reste substituiert sein kann: OH,

> O-C₁-C₄-Alkyl und Phenyl und der Phenyl-Ring noch einen oder zwei der folgenden Reste tragen kann: Chlor, Brom, Fluor, verzweigtes und unverzweigtes C1-C4-Alkyl, Nitro, Amino, C₁-C₄-Alkylamino, C₁-C₄-Dialkylamino, OH,

 $O-C_1-C_4-Alkyl$, CN, $SO_2-C_1-C_4-Alkyl$, bedeuten kann.

und (iii) für R³ gleich

5

10

wobei R^{52} Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_6 -Alkyl bedeutet, wobei ein Wasserstoff des C_1 - C_6 -Alkylrests durch einen der folgenden Reste substituiert sein kann: OH, O- C_1 - C_4 -Alkyl und Phenyl und der Phenyl-Ring noch einen oder zwei der folgenden Reste tragen kann: Chlor, Brom, Fluor, verzweigtes und unverzweigtes C_1 - C_4 -Alkyl, Nitro, Amino, C_1 - C_4 -Alkylamino, C_1 - C_4 -Dialkylamino, OH, O- C_1 - C_4 -Alkyl, CN, SO₂- C_1 - C_4 -Alkyl, bedeuten kann.

- 15 8. Verbindungen nach einem der Ansprüche 1, 2 oder 4 bis 6, wobei R³ -O-(CH₂)p-R⁵ mit p gleich 2, 3 oder 4 bedeutet.
- Verbindungen nach einem der Ansprüche 1, 2 oder 4 bis 7, wobei R⁵ einen 6-gliedrigen Ring und R⁵² einen gegebenenfalls substituierten Phenylring bedeutet.
 - 10. Arzneimittel, enthaltend neben den üblichen Träger und Hilfsstoffen eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 9.
- 25 11. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 10 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Krankheiten, bei denen pathologisch erhöhte Aktivitäten von PARP auftreten.
- 30 12. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 11 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von neurodegenerativen Krankheiten und neuronalen Schädigungen.
- Verwendung nach Anspruch 11 zur Behandlung von solchen neurodegenerativen Krankheiten und neuronalen Schädigungen, die durch Ischämie, Trauma oder Massenblutungen ausgelöst werden.
 - 14. Verwendung nach Anspruch 11 zur Behandlung des Schlaganfalls und des Schädel-Hirntraumas.

40

15. Verwendung nach Anspruch 11 zur Behandlung der Alzheimerschen Krankheit der Parkinsonsche Krankheit und der Huntington-Krankheit.

- 16. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 11 zür Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung oder Prophylaxe von Schädigungen durch Ischämien.
- 5 17. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 11 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Epilepsien, insbesondere von generalisierten epileptischen Anfällen, wie zum Beispiel Petit mal und tonisch-clonische Anfälle und partiell epileptischen Anfällen, wie Temporal Lope, und komplex-partiellen Anfällen.
- 18. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 11 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Schädigungen der Nieren nach renalen Ischämien, Schädigungen, die durch medikamentöse Therapie verursacht werden, wie zum Beispiel während der Cyclosporin-Therapie, und zur Behandlung während und nach Nierentransplantationen.
- Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 11 zur
 Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Schädigungen des Herzens nach cardialen Ischämien.
- Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 11
 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Mikroinfarkten wie zum Beispiel während und nach Herzklappenersatz, Aneurysmenresektionenen und Herztransplantationen.
- 21. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 11 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung bei einer Revasculariation kritischer verengter Koronararterien wie zum Beispiel bei PTCA und Bypass-Operationen oder kritisch verengter peripherer Arterien, insbesondere Beinarterien.
- 22. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 11
 35 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung des akuten Myocardinfarktes und von Schädigungen während und nach dessen medikamentöser oder mechanischer Lyse.
- 23. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 11 zur 40 Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Tumoren und deren Metastasierung.
- 24. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 11 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Sepsis des Multiorganversagens wie zum Beispiel während des septischen Schocks und des "acute respiratory distress-syndroms".

WO 00/26192 PCT/EP99/08169

25. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 11 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von immunologischen Krankheiten wie Entzündungen und rheumatische Erkrankungen, wie zum Beispiel rheumatoide Arthritis.

5

- 26. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 11 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Diabetes mellitus.
- 10 27. Verbindungen der Formel XX oder XXI

15

worin

R, R^1 und R^2 die in den vorherigen Ansprüchen genannten Bedeutungen haben,

sowie ihre Salze.

28. Ein Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel XX oder XXI sowie deren Salze, wobei 2-Halogeno-3-nitro-benzoesäureester mit einem geeigneten Diamin in einem polaren Lösungsmittel in Gegenwart einer Base umgesetzt werden und anschließend die Nitrogruppe mit Wasserstoff in Gegenwart eines geeigneten Katalysators hydriert wird.

- 29. Verwendung von Verbindungen der Formel XX oder XXI in der Synthese von PARP-Inhibitoren.
- 30. In vitro Nachweisverfahren für PARP-Inhibitoren, dadurch35 gekennzeichnet, daß man
 - ein ungeträgertes oder geträgertes Poly-ADP-ribosylierbares Target mit einem Reaktionsgemisch inkubiert, umfassend
- 40 al) ein PARP,
 - a2) einen PARP-Aktivator; und
 - a3) einen PARP-Inhibitor oder einen Analyten, in welchem man wenigstens einen PARP-Inhibitor vermutet;
 - b) die Poly-ADP-Ribosylierungsreaktion durchführt; und
- die Poly-ADP-Ribosylierung des Target qualitativ oder quantitativ mit einem Anti-Poly-(ADP-ribose)-Antikörper bestimmt.

WO 00/26192 PCT/EP99/08169

- 31. Verfahren nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß man PARP mit dem PARP-Aktivator und dem PARP-Inhibitor oder einen Analyten, in welchem man wenigstens einen PARP-Inhibitor vermutet, vorinkubiert, bevor man die Poly-ADP-Ribosylierungsreaktion durchführt.
- 32. Verfahren nach einem der Ansprüche 23 oder 24, dadurch gekennzeichnet, daß das Poly-ADP-ribosylierbare Target ein Histon-Protein ist.

10

- 33. Verfahren nach einem der Ansprüche 23 bis 25, dadurch gekennzeichnet, daß der PARP-Aktivator aktivierte DNA ist.
- 34. Verfahren nach einem der Ansprüche 23 bis 26, dadurch gekennzeichnet, daß man die Poly-ADP-Ribosylierungsreaktion durch Zugabe von NAD+ startet.
- 35. Verfahren nach einem der Ansprüche 23 bis 27, dadurch gekennzeichnet, daß das nichtgeträgerte Target mit einem Akzeptor-20 Fluorophor markiert ist.
 - Verfahren nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, daß man die Poly-ADP-Ribosylierung des nicht geträgerten Target mit Anti-Poly-(ADP-ribose)-Antikörper bestimmt, der mit einem Donor-Fluorophor markiert ist, das zur Energieübertragung auf das Akzeptor-Fluorophor befähigt ist.
 - 37. Verfahren nach einem der Ansprüche 28 und 29, dadurch gekennzeichnet, daß das Target biotinyliertes Histon ist und das Akzeptor-Fluorophor über Avidin oder Streptavidin daran gekoppelt ist.
 - 38. Verfahren nach einem der Ansprüche 29 und 30, dadurch gekennzeichnet, daß der Anti-Poly-(ADP-ribose)-Antikörper ein Europium-Kryptat als Donor-Fluorophor trägt.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter anal Application No PCT/EP 99/08169

A CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C07D235/18 C07 A61K31/4184 C07C237/30 C07D403/10 G01N33/573 According to international Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) CO7D A61K CO7C G01N Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used) C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages Relevant to dalm No. X WO 97 04771 A (NEWCASTLE UNIVERSITY 1-26 **VENTURES LTD)** 13 February 1997 (1997-02-13) cited in the application claims X GILCHRIST T L: "CYCLISATION OF 1-26 ORTHO-SUBSTITUTED N-ARYLBENZIMIDOYL NITRENES. PART 2.1 PREFERENTIAL CYCLISATIONS AT AN ORTHO-POSITION BEARING A METHOXYCARBONYL GROUP" JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, PERKIN TRANSACTIONS 1, GB, CHEMICAL SOCIETY. LETCHWORTH, 1 January 1979 (1979-01-01), pages 2303-2307, XP000605168 ISSN: 0300-922X cited in the application the whole document Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex. Special categories of cited documents: "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance cited to understand the principle or theory underlying the Invention "E" earlier document but published on or after the international "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "L" document which may throw doubts on priority cialm(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "&" document member of the same patent family Date of the actual completion of the international search Date of mailing of the international search report 17 February 2000 23/02/2000 Name and mailing address of the ISA Authorized officer European Patent Office, P.B. 5818 Patentiaan 2 NL - 2280 HV Rijswik Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016 Henry, J

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

ina jonal Application No PCT/EP 99/08169

		PCT/EP 99/08169
C.(Continu	ation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	Relevant to datin No.
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	resevara to Gazii No.
X	EP 0 209 707 A (DR KARLTHOMAE GMBH) 28 January 1987 (1987-01-28) claims & DE 35 22 230 A cited in the application	1,10
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 125, no. 15, 7 October 1996 (1996-10-07) Columbus, Ohio, US; abstract no. 189126J, ROGER J. GRIFFIN ET AL: "Resistance modifying agents.3. Novel benzimidazole and quinnazolinone inhibitors of the DNA repair enzyme poly(ADP-ribose)polymerase" page 521; XP002128895 abstract & PHARM. SCI., vol. 2, no. 1, 1996, pages 43-47,	1,10-26
X	DE 22 48 596 A (LOEVENS KEMISKE FABRIK PRODUKTIONAKTIESELKAB) 12 April 1973 (1973-04-12) page 13; claims; example 1H	. 27
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 74, no. 9, 1 March 1971 (1971-03-01) Columbus, Ohio, US; abstract no. 42311k, YOSHUKE OHKURA ET AL: "Organic analysis. LXXII. Mechanism of the color reaction between m-dinitrobenzene and alkali cyanide. II.Color reactions products of 2,4-dinitroaniline with potassium cyanide" page 347; XP002128896 abstract & CHEM. PHARM. BULL., vol. 18, no. 11, 1970, pages 2164-2168,	27
A	FR 2 707 011 A (PASTEUR SANOFI DIAGNOSTICS) 30 December 1994 (1994–12–30) claims	28-38
A	EP 0 719 765 A (MITSUI TOATSU CHEMICALS) 3 July 1996 (1996-07-03) claims	1-26

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

Inte. onal Application No PCT/EP 99/08169

Patent document cited in search report		Publication date		atent family nember(e)		Publication date
WO 9704771	A	13-02-1997	AU	662409	5 A	26-02-1997
#U 3/U4//I	^	13-02-1997	CA	222546		13-02-1997
			CN	119598		14-10-1998
						17-06-1998
			CZ	9800303		
			EP	084192		20-05-1998
			HU	990109		28-07-1999
			JP	1151015		07-09-1999
			NO	98041		02-04-1998
			PL	32486		22-06-1998
			SK	1359	3 A	03-06-1998
EP 0209707	A	28-01-1987	DE	352223) A	02-01-1987
			AU	589328	5 A	24-12-1986
			DK	29098		22-12-1986
		•	ES	55633		01-12-1987
			ĒŠ	55724		16-05-1987
			ËŠ	55724		16-05-1987
			FΪ	86262		22-12-1986
			GR	86158		21-10-1986
			HÜ	4245		28-07-1987
			JP	6200047		06-01-1987
			NO	86247		22-12-1986
			PT ·		, A 9 A,B	01-07-1986
		-	ZA	860460		24-02-1988
DE 2248596	A	12-04-1973	GB	138006		08-01-1975
DE 2240330	^	12 04 13/3	AU	46629		23-10-1975
			AU	470317		11-04-1974
		•	BE	78967		04-04-1973
			CA	100296		04-01-1977
			FR	215820		15-06-1973
			IE	3739		20-07-1977
			JP	4804422		26-06-1973
			LU			
				6622		23-01-1973
			NL	721305		09-04-1973
			SE	40055		03-04-1978
			US	386438		04-02-1975
			ZA	720639	U A	27-06-1975
FR 2707011	A	30-12-1994	NONE			
EP 0719765	A	03-07-1996	JP	823151	4 A	10-09-1996
			US	582125	R A	13-10-1998

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inten nales Aktenzeichen PCT/EP 99/08169

A KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 7 C07D235/18 C07D403/10 A61K31/4184 C07C237/30 G01N33/573

Nach der Internationalen Patentitiasselfikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 C07D A61K C07C G01N IPK 7

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsuttierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtil verwendete Suchbegriffe)

X	WO 97 04771 A (NEWCASTLE UNIVERSITY VENTURES LTD) 13. Februar 1997 (1997-02-13) 11n der Anmeldung erwähnt Ansprüche GILCHRIST T L: "CYCLISATION OF ORTHO-SUBSTITUTED N-ARYLBENZIMIDOYL	1-26
X 6	VENTURES LTD) 13. Februar 1997 (1997-02-13) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche GILCHRIST T L: "CYCLISATION OF	
	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	1–26
1	NITRENES. PART 2.1 PREFERENTIAL CYCLISATIONS AT AN ORTHO-POSITION BEARING A METHOXYCARBONYL GROUP" JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, PERKIN TRANSACTIONS 1,GB,CHEMICAL SOCIETY. LETCHWORTH,1. Januar 1979 (1979-01-01), Seiten 2303-2307, XP000605168 ISSN: 0300-922X in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	·

	X	Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen
-		

Siehe Anhang Patentfamille

- Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen ;
- "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsenspruch zweifelhaft er-scheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Rechercherbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausaeführt)
- "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Berutzung, eine Ausstellung oder andere Maßneimen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Ahmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden lat
- T Spätere Veröffentlichung, die nach dem Internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Enfindung zugrundellegenden Prinzipe oder der ihr zugrundellegenden Theorie angegeben ist
- "X" Veröffertlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffertlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderleicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahellegend ist
- "&" Veröffentlichung, die Mitglied derseiben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche Absendedatum des Internationalen Recherchenberichts 17. Februar 2000 23/02/2000 Bevollmächtigter Bedlensteter Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäischee Patentamt, P.B. 5818 Patentiaan 2 NL – 2280 HV Fijsselft Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo ni, Fax: (+31–70) 340–3018

Henry, J

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inter. Indee Aktenzeichen
PCT/EP 99/08169

rung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN	
Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Telle	Betr. Anspruch Nr.
EP 0 209 707 A (DR KARLTHOMAE GMBH) 28. Januar 1987 (1987-01-28) Ansprüche & DE 35 22 230 A in der Anmeldung erwähnt	1,10
CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 125, no. 15, 7. Oktober 1996 (1996-10-07) Columbus, Ohio, US; abstract no. 189126j, ROGER J. GRIFFIN ET AL: "Resistance modifying agents.3. Novel benzimidazole and quinnazolinone inhibitors of the DNA repair enzyme poly(ADP-ribose)polymerase" Seite 521; XP002128895 Zusammenfassung & PHARM. SCI., Bd. 2, Nr. 1, 1996, Seiten 43-47,	1,10-26
DE 22 48 596 A (LOEVENS KEMISKE FABRIK PRODUKTIONAKTIESELKAB) 12. April 1973 (1973-04-12) Seite 13; Ansprüche; Beispiel 1H	27
CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 74, no. 9, 1. März 1971 (1971-03-01) Columbus, Ohio, US; abstract no. 42311k, YOSHUKE OHKURA ET AL: "Organic analysis. LXXII. Mechanism of the color reaction between m-dinitrobenzene and alkali cyanide. II.Color reactions products of 2,4-dinitroaniline with potassium cyanide" Seite 347; XP002128896 Zusammenfassung & CHEM. PHARM. BULL., Bd. 18, Nr. 11, 1970, Seiten 2164-2168,	27
FR 2 707 011 A (PASTEUR SANOFI DIAGNOSTICS) 30. Dezember 1994 (1994-12-30) Ansprüche	28-38
EP 0 719 765 A (MITSUI TOATSU CHEMICALS) 3. Juli 1996 (1996-07-03) Ansprüche	1-26
	28. Januar 1987 (1987-01-28) Ansprüche & DE 35 22 230 A in der Anmeldung erwähnt CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 125, no. 15, 7. Oktober 1996 (1996-10-07) Columbus, Ohio, US; abstract no. 189126j, ROGER J. GRIFFIN ET AL: "Resistance modifying agents.3. Novel benzimidazole and quinnazolinone inhibitors of the DNA repair enzyme poly(ADP-ribose)polymerase" Seite 521; XP002128895 Zusammenfassung & PHARM. SCI., Bd. 2, Nr. 1, 1996, Seiten 43-47, DE 22 48 596 A (LOEVENS KEMISKE FABRIK PRODUKTIONAKTIESELKAB) 12. April 1973 (1973-04-12) Seite 13; Ansprüche; Beispiel 1H CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 74, no. 9, 1. März 1971 (1971-03-01) Columbus, Ohio, US; abstract no. 42311k, YOSHUKE OHKURA ET AL: "Organic analysis. LXXII. Mechanism of the color reaction between m-dinitrobenzene and alkali cyanide. II. Color reactions products of 2,4-dinitroaniline with potassium cyanide" Seite 347; XP002128896 Zusammenfassung & CHEM. PHARM. BULL., Bd. 18, Nr. 11, 1970, Seiten 2164-2168, FR 2 707 011 A (PASTEUR SANOFI DIAGNOSTICS) 30. Dezember 1994 (1994-12-30) Ansprüche EP 0 719 765 A (MITSUI TOATSU CHEMICALS) 3. Juli 1996 (1996-07-03)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur seiben Patentfamilie gehören

traten nales Aktenzeichen
PCT/EP 99/08169

W0 9704771 A 13-02-1997 AU 6624096 A 26-02-199 CA 2225465 A 13-02-199 CT 9800303 A 17-06-199 EP 0841924 A 20-05-199 HU 9901092 A 28-07-199 JP 11510154 T 07-09-199 N0 980414 A 02-04-199 EP 0209707 A 28-01-1987 DE 3522230 A 02-01-199 SK 13598 A 03-06-199 EP 0209707 A 28-01-1987 DE 3522230 A 02-01-199 DK 290986 A 22-12-199 ES 556338 A 01-12-199 ES 556338 A 01-12-199 ES 557241 A 16-05-199 ES 557240 A 16-05-199 ES 557240 A 16-05-199 FI 862623 A 22-12-199 GR 861583 A 21-10-199 HU 42452 A 28-07-199 JP 62000471 A 06-01-199 NO 862477 A 22-12-199 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-199 AU 4703172 A 11-04-19 ER 789679 A 04-04-199 FR 2158208 A 15-06-199 FR 2158208 A 15-06-199 FR 2158208 A 15-06-199 JP 48044229 A 26-06-199 LU 66227 A 23-01-199 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 SE 400551 B 03-04-199 SE 400551 B 03-04-199 SE 400551 B 03-04-199	Recherchenbericht	Datum der	Mitglied(er) der		Datum der
CA 2225465 A 13-02-19 CN 1195985 A 14-10-19 CZ 9800303 A 17-06-19 EP 0841924 A 20-05-19 HU 9901092 A 28-07-19 JP 11510154 T 07-09-19 NO 980414 A 02-04-19 PL 324869 A 22-06-19 SK 13598 A 03-06-19 EP 0209707 A 28-01-1987 DE 3522230 A 02-01-19 AU 5893286 A 24-12-19 DK 290986 A 22-12-19 ES 556338 A 01-12-19 ES 556338 A 01-12-19 ES 557241 A 16-05-19 ES 557240 A 16-05-19 FI 862623 A 22-12-19 GR 861583 A 21-10-19 GR 861583 A 21-10-19 HU 42452 A 28-07-19 JP 62000471 A 06-01-19 NO 862477 A 22-12-19 PT 82789 A, B 01-07-19 PT 82789 A, B 01-07-19 PT 82789 A, B 01-07-19 AU 466298 B 23-10-19 AU 4703172 A 11-04-19 BE 789679 A 04-04-19 CA 1002964 A 04-01-19 FR 2158208 A 15-06-19 IE 37392 B 20-07-19 JP 48044229 A 26-06-19 LU 66227 A 23-01-19 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 US 3864385 A 04-02-19 US 3864385 A 04-02-19 US 3864385 A 04-02-19	ührtes Patentdokument	Veröffentlichung	Patentfamille		Veröffentlichung
CA 2225465 A 13-02-19(CN 1195985 A 14-10-19) CZ 9800303 A 17-06-19) EP 0841924 A 20-05-19; HU 9901092 A 28-07-19; JP 11510154 T 07-09-19; NO 980414 A 02-04-19; PL 324869 A 22-06-19; SK 13598 A 03-06-19; EP 0209707 A 28-01-1987 DE 3522230 A 02-01-19; DK 290986 A 22-12-19; ES 556338 A 01-12-19; ES 556338 A 01-12-19; ES 556338 A 01-12-19; ES 557240 A 16-05-19; ES 557241 A 16-05-19; ES 557241 A 16-05-19; ES 557241 A 16-05-19; HU 42452 A 28-07-19; JP 62000471 A 06-01-19; MO 862477 A 22-12-19; PT 82789 A,B 01-07-19; PT 82789 A,B 01-07-19; PT 82789 A,B 01-07-19; ZA 8604602 A 24-02-19; DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-19; AU 4703172 A 11-04-19; BE 789679 A 04-04-19; CA 1002964 A 04-01-19; FR 2158208 A 15-06-19; JP 48044229 A 26-06-19; LU 66227 A 23-01-19; NL 7213059 A 09-04-19; SE 400551 B 03-04-19; SE 40051 B 03-04-19; SE 40051 B 03-04-19; SE 40051 B 03-04-19; SE 40051 B 03-04-	0 9704771 A	13-02-1997	AU 662409	5 A	26-02-1997
CN 1195985 A 14-10-199 CZ 9800303 A 17-06-199 EP 0841924 A 20-05-199 HU 9901092 A 28-07-199 JP 11510154 T 07-09-199 NO 980414 A 02-04-199 PL 324869 A 22-06-199 SK 13598 A 03-06-199 EP 0209707 A 28-01-1987 DE 3522230 A 02-01-199 AU 5893286 A 24-12-199 DK 290986 A 22-12-199 ES 556338 A 01-12-199 ES 557240 A 16-05-199 ES 557240 A 16-05-199 ES 557240 A 16-05-199 FI 862623 A 22-12-199 GR 861583 A 21-10-199 HU 42452 A 28-07-199 JP 6200471 A 06-01-199 NO 862477 A 22-12-199 PT 82789 A,B 01-07-199 AU 4703172 A 11-04-19 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-199 AU 4703172 A 11-04-19 DE 248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-199 CA 1002964 A 04-04-199 CA 1002964 A 04-01-199 FR 2158208 A 15-06-19 IE 37392 B 20-07-19 JP 48044229 A 26-06-199 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19				5 A	13-02-1997
CZ 9800303 A 17-06-19 EP 0841924 A 20-05-19 HU 9901092 A 28-07-19 JP 11510154 T 07-09-19 NO 980414 A 02-04-19 PL 324869 A 22-06-19 SK 13598 A 03-06-19 EP 0209707 A 28-01-1987 DE 3522230 A 02-01-19 AU 5893286 A 24-12-19 DK 290986 A 22-12-19 ES 556338 A 01-12-19 ES 557240 A 16-05-19 ES 557240 A 16-05-19 ES 557241 A 16-05-19 ES 557241 A 16-05-19 HU 42452 A 28-07-19 JP 62000471 A 06-01-19 HU 42452 A 28-07-19 JP 62000471 A 06-01-19 NO 862477 A 22-12-19 PT 82789 A, B 01-07-19 ZA 8604602 A 24-02-19 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-19 AU 4703172 A 11-04-19 EF 789679 A 04-01-19 FR 2158208 A 15-06-19 IE 37392 B 20-07-19 JP 48044229 A 26-06-19 IE 37392 B 20-07-19 JP 48044229 A 26-06-19 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19					14-10-1998
EP 0841924 A 20-05-19 HU 9901092 A 28-07-19 JP 11510154 T 07-09-19 NO 980414 A 02-04-19 PL 324869 A 22-06-19 SK 13598 A 03-06-19 EP 0209707 A 28-01-1987 DE 3522230 A 02-01-19 AU 5893286 A 24-12-19 DK 290986 A 22-12-19 ES 556338 A 01-12-19 ES 557240 A 16-05-19 ES 557241 A 16-05-19 ES 557241 A 16-05-19 FI 862623 A 22-12-19 HU 42452 A 28-07-19 JP 62000471 A 06-01-19 NO 862477 A 22-12-19 PT 82789 A,B 01-07-19 ZA 8604602 A 24-02-19 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-19 AU 4703172 A 11-04-19 BE 789679 A 04-04-19 CA 1002964 A 04-01-19 FR 2158208 A 15-06-19 IE 37392 B 20-07-19 JP 48044229 A 26-06-19 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19					17-06-1998
HU 9901092 A 28-07-199 JP 11510154 T 07-09-199 NO 980414 A 02-04-199 PL 324869 A 22-06-199 SK 13598 A 03-06-199 EP 0209707 A 28-01-1987 DE 3522230 A 02-01-194 AU 5893286 A 24-12-199 DK 290986 A 22-12-199 ES 556338 A 01-12-199 ES 557240 A 16-05-199 ES 557240 A 16-05-199 ES 557241 A 16-05-199 FI 862623 A 22-12-199 GR 861583 A 21-10-199 HU 42452 A 28-07-199 JP 62000471 A 06-01-199 NO 862477 A 22-12-199 PT 82789 A,B 01-07-199 ZA 8604602 A 24-02-199 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-19 AU 4703172 A 11-04-19 EF 789679 A 04-04-19 CA 1002964 A 04-01-19 FR 2158208 A 15-06-19 JP 48044229 A 26-06-19 US 3864385 A 04-02-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19					20-05-1998
DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-19 AU 4703172 A 11-04-19 BE 789679 A 04-04-19 CA 1002964 A 04-01-19 FR 2158208 A 15-06-19 JP 48044229 A 26-06-19 JP 48044229 A 26-06-19 LU 66227 A 23-01-19 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19					28-07-1999
NO 980414 A 02-04-199 PL 324869 A 22-06-199 SK 13598 A 03-06-199 EP 0209707 A 28-01-1987 DE 3522230 A 02-01-198 AU 5893286 A 24-12-199 DK 290986 A 22-12-199 ES 556338 A 01-12-199 ES 557240 A 16-05-199 ES 557240 A 16-05-199 ES 557241 A 16-05-199 FI 862623 A 22-12-199 GR 861583 A 21-10-199 HU 42452 A 28-07-199 JP 62000471 A 06-01-199 NO 862477 A 22-12-199 PT 82789 A, B 01-07-199 ZA 8604602 A 24-02-199 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-19 AU 4703172 A 11-04-19 BE 789679 A 04-04-19 CA 1002964 A 04-01-19 FR 2158208 A 15-06-19 JP 48044229 A 26-06-19 LU 66227 A 23-01-19 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19					07-09-1999
PL 324869 A 22-06-198 SK 13598 A 03-06-198 EP 0209707 A 28-01-1987 DE 3522230 A 02-01-198 AU 5893286 A 24-12-199 DK 290986 A 22-12-198 ES 556338 A 01-12-198 ES 557240 A 16-05-198 ES 557241 A 16-05-198 ES 557241 A 16-05-198 ES 61583 A 21-10-198 HU 42452 A 28-07-198 JP 62000471 A 06-01-199 NO 862477 A 22-12-199 PT 82789 A,B 01-07-199 ZA 8604602 A 24-02-198 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-19 AU 4703172 A 11-04-199 BE 789679 A 04-04-199 CA 1002964 A 04-01-19 FR 2158208 A 15-06-199 LU 66227 A 23-01-199 NL 7213059 A 09-04-199 SE 400551 B 03-04-199 US 3864385 A 04-02-199					02-04-1998
SK 13598 A 03-06-198 EP 0209707 A 28-01-1987 DE 3522230 A 02-01-198 AU 5893286 A 24-12-199 DK 290986 A 22-12-199 ES 556338 A 01-12-198 ES 557240 A 16-05-199 ES 557241 A 16-05-199 FI 862623 A 22-12-199 GR 861583 A 21-10-199 JP 62000471 A 06-01-199 JP 62000471 A 06-01-199 AU 42452 A 28-07-199 ZA 8604602 A 24-02-199 ZA 8604602 A 24-02-199 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-199 AU 4703172 A 11-04-199 BE 789679 A 04-04-199 CA 1002964 A 04-01-199 FR 2158208 A 15-06-199 JP 48044229 A 26-06-199 LU 66227 A 23-01-199 NL 7213059 A 09-04-199 SE 400551 B 03-04-199 US 3864385 A 04-02-199 US 3864385 A 04-02-199 US 3864385 A 04-02-199 ZA 7206390 A 27-06-199					
EP 0209707 A 28-01-1987 DE 3522230 A 02-01-1987 AU 5893286 A 24-12-1987 DK 290986 A 22-12-1987 ES 556338 A 01-12-1987 ES 557240 A 16-05-1987 ES 557241 A 16-05-1987 ES 557241 A 16-05-1987 ES 557241 A 16-05-1987 ES 63638 A 21-10-1987 HU 42452 A 28-07-1987 JP 62000471 A 06-01-1987 NO 862477 A 22-12-1987 PT 82789 A,B 01-07-1987 ZA 8604602 A 24-02-1987 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-1987 AU 4703172 A 11-04-1987 BE 789679 A 04-04-1998 CA 1002964 A 04-01-1998 CA 1002964 A 04-01-1998 FR 2158208 A 15-06-1998 IE 37392 B 20-07-1998 JP 48044229 A 26-06-1998 LU 66227 A 23-01-1998 NL 7213059 A 09-04-1998 SE 400551 B 03-04-1998 SE 400551 B 03-04-1998 US 3864385 A 04-02-1998 ZA 7206390 A 27-06-1998					
AU 5893286 A 24-12-190 DK 290986 A 22-12-190 ES 556338 A 01-12-190 ES 557240 A 16-05-190 ES 557241 A 16-05-190 ES 557241 A 16-05-190 FI 862623 A 22-12-190 GR 861583 A 21-10-190 HU 42452 A 28-07-190 JP 62000471 A 06-01-190 NO 862477 A 22-12-190 PT 82789 A,B 01-07-190 ZA 8604602 A 24-02-190 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-190 AU 466298 B 23-10-190 AU 4703172 A 11-04-190 EE 789679 A 04-04-190 CA 1002964 A 04-01-190 FR 2158208 A 15-06-190 IE 37392 B 20-07-190 JP 48044229 A 26-06-190 LU 66227 A 23-01-190 NL 7213059 A 09-04-190 SE 400551 B 03-04-190 US 3864385 A 04-02-190 ZA 7206390 A 27-06-190				- A	03-00-1330
DK 290986 A 22-12-196 ES 556338 A 01-12-196 ES 557240 A 16-05-196 ES 557241 A 16-05-196 ES 557241 A 16-05-196 ES 557241 A 16-05-196 ES 557241 A 16-05-196 ES 661583 A 22-12-196 GR 861583 A 21-10-196 HU 42452 A 28-07-196 JJP 62000471 A 06-01-196 NO 862477 A 22-12-196 PT 82789 A,B 01-07-196 ZA 8604602 A 24-02-196 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-196 AU 466298 B 23-10-196 AU 4703172 A 11-04-197 BE 789679 A 04-04-197 CA 1002964 A 04-01-197 FR 2158208 A 15-06-197 IE 37392 B 20-07-197 JP 48044229 A 26-06-197 LU 66227 A 23-01-197 NL 7213059 A 09-04-197 SE 400551 B 03-04-197 US 3864385 A 04-02-197 ZA 7206390 A 27-06-197	P 0209707 A	28-01-1987			02-01-1987
ES 556338 A 01-12-19 ES 557240 A 16-05-19 ES 557241 A 16-05-19 ES 62623 A 22-12-19 HU 42452 A 28-07-19 JP 62000471 A 06-01-19 NO 862477 A 22-12-19 PT 82789 A,B 01-07-19 ZA 8604602 A 24-02-19 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-19 AU 4703172 A 11-04-19 BE 789679 A 04-04-19 CA 1002964 A 04-01-19 FR 2158208 A 15-06-19 JP 48044229 A 26-06-19 LU 66227 A 23-01-19 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19					24-12-1986
ES 557240 A 16-05-194 ES 557241 A 16-05-194 FI 862623 A 22-12-194 GR 861583 A 21-10-194 HU 42452 A 28-07-194 JP 62000471 A 06-01-194 NO 862477 A 22-12-194 PT 82789 A,B 01-07-195 ZA 8604602 A 24-02-195 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-195 AU 466298 B 23-10-195 AU 4703172 A 11-04-195 BE 789679 A 04-04-195 CA 1002964 A 04-01-195 FR 2158208 A 15-06-195 IE 37392 B 20-07-195 JP 48044229 A 26-06-195 LU 66227 A 23-01-195 NL 7213059 A 09-04-195 SE 400551 B 03-04-195 US 3864385 A 04-02-195 ZA 7206390 A 27-06-195			DK 29098	5 A	22-12-1986
ES 557241 A 16-05-194 FI 862623 A 22-12-194 GR 861583 A 21-10-194 HU 42452 A 28-07-194 JP 62000471 A 06-01-194 NO 862477 A 22-12-194 PT 82789 A,B 01-07-194 ZA 8604602 A 24-02-195 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-194 AU 466298 B 23-10-195 AU 4703172 A 11-04-195 BE 789679 A 04-04-195 CA 1002964 A 04-01-195 FR 2158208 A 15-06-195 JP 48044229 A 26-06-195 LU 66227 A 23-01-195 NL 7213059 A 09-04-195 SE 400551 B 03-04-195 US 3864385 A 04-02-195 ZA 7206390 A 27-06-195			ES 55633	3 A	01-12-1987
FI 862623 A 22-12-194 GR 861583 A 21-10-194 HU 42452 A 28-07-194 JP 62000471 A 06-01-194 NO 862477 A 22-12-194 PT 82789 A,B 01-07-195 ZA 8604602 A 24-02-195 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-195 AU 466298 B 23-10-195 AU 4703172 A 11-04-195 BE 789679 A 04-04-195 CA 1002964 A 04-01-195 FR 2158208 A 15-06-195 JP 48044229 A 26-06-195 LU 66227 A 23-01-195 NL 7213059 A 09-04-195 SE 400551 B 03-04-195 US 3864385 A 04-02-195 ZA 7206390 A 27-06-195			ES 55724) A	16-05-1987
GR 861583 A 21-10-194 HU 42452 A 28-07-194 JP 62000471 A 06-01-194 NO 862477 A 22-12-194 PT 82789 A,B 01-07-194 ZA 8604602 A 24-02-194 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-194 AU 466298 B 23-10-195 AU 4703172 A 11-04-195 BE 789679 A 04-04-195 CA 1002964 A 04-01-195 FR 2158208 A 15-06-195 JP 48044229 A 26-06-195 LU 66227 A 23-01-195 NL 7213059 A 09-04-195 SE 400551 B 03-04-195 US 3864385 A 04-02-195 ZA 7206390 A 27-06-195			ES 55724	LA	16-05-1987
HU 42452 A 28-07-194 JP 62000471 A 06-01-194 NO 862477 A 22-12-194 PT 82789 A,B 01-07-194 ZA 8604602 A 24-02-194 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-19 AU 466298 B 23-10-19 AU 4703172 A 11-04-19 BE 789679 A 04-04-19 CA 1002964 A 04-01-19 FR 2158208 A 15-06-19 JP 48044229 A 26-06-19 LU 66227 A 23-01-19 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19			FI 86262	3 A	22-12-1986
HU 42452 A 28-07-194 JP 62000471 A 06-01-194 NO 862477 A 22-12-194 PT 82789 A,B 01-07-194 ZA 8604602 A 24-02-194 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-19 AU 466298 B 23-10-19 AU 4703172 A 11-04-19 BE 789679 A 04-04-19 CA 1002964 A 04-01-19 FR 2158208 A 15-06-19 JP 48044229 A 26-06-19 LU 66227 A 23-01-19 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19			GR 86158	3 A	21-10-1986
JP 62000471 A 06-01-194 NO 862477 A 22-12-194 PT 82789 A,B 01-07-194 ZA 8604602 A 24-02-194 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-19 AU 466298 B 23-10-19 AU 4703172 A 11-04-19 BE 789679 A 04-04-19 CA 1002964 A 04-01-19 FR 2158208 A 15-06-19 IE 37392 B 20-07-19 JP 48044229 A 26-06-19 LU 66227 A 23-01-19 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19					28-07-1987
NO 862477 A 22-12-194 PT 82789 A,B 01-07-194 ZA 8604602 A 24-02-194 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-19 AU 466298 B 23-10-19 BE 789679 A 04-04-19 CA 1002964 A 04-01-19 FR 2158208 A 15-06-19 IE 37392 B 20-07-19 JP 48044229 A 26-06-19 LU 66227 A 23-01-19 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19			JP 6200047	l A	06-01-1987
PT 82789 A,B 01-07-196 ZA 8604602 A 24-02-196 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-196 AU 466298 B 23-10-196 AU 4703172 A 11-04-197 BE 789679 A 04-04-197 CA 1002964 A 04-01-197 FR 2158208 A 15-06-197 JP 48044229 A 26-06-197 LU 66227 A 23-01-197 NL 7213059 A 09-04-197 SE 400551 B 03-04-197 US 3864385 A 04-02-197 ZA 7206390 A 27-06-197			NO 86247	7 A	22-12-1986
ZA 8604602 A 24-02-190 DE 2248596 A 12-04-1973 GB 1380065 A 08-01-190 AU 466298 B 23-10-190 AU 4703172 A 11-04-190 BE 789679 A 04-04-190 CA 1002964 A 04-01-190 FR 2158208 A 15-06-190 JP 48044229 A 26-06-190 LU 66227 A 23-01-190 NL 7213059 A 09-04-190 SE 400551 B 03-04-190 US 3864385 A 04-02-190 ZA 7206390 A 27-06-190			PT 8278	A.B	01-07-1986
AU 466298 B 23-10-19 AU 4703172 A 11-04-19 BE 789679 A 04-04-19 CA 1002964 A 04-01-19 FR 2158208 A 15-06-19 IE 37392 B 20-07-19 JP 48044229 A 26-06-19 LU 66227 A 23-01-19 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19					24-02-1988
AU 466298 B 23-10-19 AU 4703172 A 11-04-19 BE 789679 A 04-04-19 CA 1002964 A 04-01-19 FR 2158208 A 15-06-19 IE 37392 B 20-07-19 JP 48044229 A 26-06-19 LU 66227 A 23-01-19 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19	F 2248596 A	12-04-1973	GB 138006	5 A	08-01-1975
AU 4703172 A 11-04-19 BE 789679 A 04-04-19 CA 1002964 A 04-01-19 FR 2158208 A 15-06-19 IE 37392 B 20-07-19 JP 48044229 A 26-06-19 LU 66227 A 23-01-19 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19		12 01 1570			23-10-1975
BE 789679 A 04-04-19 CA 1002964 A 04-01-19 FR 2158208 A 15-06-19 IE 37392 B 20-07-19 JP 48044229 A 26-06-19 LU 66227 A 23-01-19 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19					11-04-1974
CA 1002964 A 04-01-19 FR 2158208 A 15-06-19 IE 37392 B 20-07-19 JP 48044229 A 26-06-19 LU 66227 A 23-01-19 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19					04-04-1973
FR 2158208 A 15-06-19 IE 37392 B 20-07-19 JP 48044229 A 26-06-19 LU 66227 A 23-01-19 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19					04-01-1977
IE 37392 B 20-07-19 JP 48044229 A 26-06-19 LU 66227 A 23-01-19 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19					15-06-1973
JP 48044229 A 26-06-19 LU 66227 A 23-01-19 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19					20-07-1977
LU 66227 A 23-01-19 NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19					26-06-1973
NL 7213059 A 09-04-19 SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19					23-01-1973
SE 400551 B 03-04-19 US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19					09-04-1973
US 3864385 A 04-02-19 ZA 7206390 A 27-06-19					03-04-1978
ZA 7206390 A 27-06-19					04-02-1975
FR 2707011 A 30-12-1994 KEINE					27-06-1975
	R 2707011 A	30-12-1994	KEINE		
EP 0719765 A 03-07-1996 JP 8231514 A 10-09-19				4 A	10-09-1996
	3/13/03 R	05 07 1550			13-10-1998

